

**MEDEDELINGEN LANDBOUWHOGESCHOOL
WAGENINGEN • NEDERLAND • 67-5(1967)**

**DE TOESTAND VAN CALCIUM,
MAGNESIUM EN ENKELE ANDERE
MINERALEN IN DARMINHOUD EN
MEST VAN HERKAUWERS IN VERBAND
MET HUN RESORPTIE**

A. TH. VAN'T KLOOSTER

*Laboratorium voor Fysiologie der Dieren,
Landbouwhogeschool, Wageningen, Nederland*

(Ontvangen 8-II-1967)

H. VEENMAN & ZONEN N.V. - WAGENINGEN - 1967

**Mededelingen van de Landbouwhogeschool,
Wageningen 67-5 (1967)
is ook gepubliceerd als proefschrift**

INHOUD

INLEIDING	1
1. LITERATUURONDERZOEK	4
1.1 De plaats van de resorptie van het calcium en magnesium	4
1.2 De darmwand	8
1.3 Het resorptiemechanisme	10
1.3.1 Passief transport	12
1.3.2 Actief transport	14
1.3.3 Gekatalyseerde diffusie	15
1.4 Het resorptiemechanisme van het calcium	16
1.5 Het resorptiemechanisme van het magnesium	20
1.6 De toestand van het calcium en het magnesium in de darm van herkauwers	21
1.6.1 De gehalten aan calcium en aan magnesium in het ultrafiltraat van de darminhoud	22
1.6.2 De verdeling van het calcium en het magnesium over de ultrafiltreerbare en de niet-ultrafiltreerbare fractie van de darminhoud van herkauwers en de pH van de darminhoud	26
2. METHODEN	30
2.1 De scheiding van de opgeloste en de onopgeloste fractie	30
2.2 De bepaling van de calcium- en magnesiumionenconcentratie in darmvocht	34
2.3 Chemische analyses	40
2.3.1 Voorbereiding van de monsters	40
2.3.2 Na en K	41
2.3.3 Ca en Mg	41
2.3.4 Ammoniak	41
2.3.5 Fosforzuur	42
2.3.6 Koolzuur	42
2.3.7 Cr_2O_3	42
2.3.8 Polyethyleenglycol (P.E.G.)	42
2.4 Andere bepalingen	43
2.4.1 Droge stof	43
2.4.2 Waterstofionen-concentratie	43
2.4.3 Elektrisch geleidingsvermogen	44
2.4.4 Het elektrische potentiaalverschil tussen bloed en darminhoud	45
2.5 Berekeningen	45
3. DE PROEFNEMINGEN	46
3.1 De toestand van enkele mineralen in de mest van koeien	46
3.1.1 Twee voederproeven met melkkoeien	46
3.1.1.1 Proef met Betsy 2 en Witschoft 5 op een winterrantsoen (eerste proefperiode) en op een grasrantsoen (tweede proefperiode)	46
3.1.1.2 Proef met Betsy en Lionne op een bijzonder rantsoen ('kopziekt rantsoen')	51
3.1.2 De toestand van het Ca, het Mg en het fosfaat in de niet-ultrafiltreerbare fractie van de mest.	54
3.2 De verdeling van de mineralen over de ultrafiltreerbare en de niet-ultrafiltreerbare fractie van de inhoud uit de blinde darm en de mest van koeien op verschillende rantsoenen	60

3.3	De gehalten aan Na, K, Ca, Mg en P in de darminhoud van pas gedode en van levende dieren	72
3.3.1	De gehalten aan mineralen in de darminhoud van slachtkoeien en de verdeling dezer mineralen over de onopgeloste en opgeloste fraktie	72
3.3.2	De veranderingen aan het dunne-darm-slijmvlies ten gevolge van het slachten	82
3.3.3	De gehalten aan droge stof en aan mineralen in de darminhoud van ge-anaestheseerde levende dieren	83
3.4	Proeven met een schaap en een koe, voorzien van fistels in het begin en in het einde van de dunne darm (duodenum en ileum)	87
3.5	De fysisch-chemische activiteit van het calcium en het magnesium in chymus-ultrafiltraten	95
3.6	Het elektrische potentiaalverschil tussen bloed en darmlumen bij een koe . .	101
3.7	De netto-resorptie in de darm van koeien	105
3.7.1	De netto-resorptie in de dikke darm	105
3.7.2	De netto-resorptie in de dunne darm	110
SAMENVATTING		115
SUMMARY		122
LITERATUURLIJST		129

INLEIDING

Het spreekt vanzelf, dat een hoge melkproduktie, alsook een goede gezondheid van het melkvee tot de noodzakelijke voorwaarden behoren voor een goede rentabiliteit van de rundveehouderij. Om aan deze voorwaarden te kunnen voldoen moet met name aan de voeding der dieren bijzondere zorg worden geschonken. Voor de praktische veevoeding is de vraag hoeveel van een bepaalde stof in een dagrantsoen aanwezig moet zijn voor een goede gezondheid en produktie der dieren, van doorslaggevende betekenis. Daarnaast zal men willen weten welke factoren op de behoefte van invloed zijn. Om deze vragen te kunnen beantwoorden, dient de fysiologie der stofwisseling van de verschillende rantsoenbestanddelen bekend te zijn.

Naast ruwe celstof, overige koolhydraten, eiwitten en vetten nemen de minerale bestanddelen in de voeding der herkauwers een belangrijke plaats in. Sinds de eeuwwisseling is een bijna onafzienbare hoeveelheid werk verzet om de mineralenbehoefte van het rundvee en de funktie van de verschillende mineralen in het lichaam vast te stellen. Veel is daardoor bekend geworden; maar nog steeds is onze kennis verre van volledig.

Bij het nagaan van de literatuurgegevens bleek, dat er in de loop der tijden veel stofwisselingsproeven met runderen zijn uitgevoerd, waarbij de balansen van Ca, Mg en P werden opgemaakt (zie DUNCAN, 1958). In de oudere proeven (FORBES et al., 1916, 1918, 1922, 1935; ELLENBERGER et al., 1931) werd vooral aandacht geschonken aan het Ca en de P; het Mg werd, vanuit voedingsfysiologisch oogpunt beschouwd, van weinig belang geacht. Sinds SJOLLEMA en SEEKLES (1929) echter het verband aantoonde tussen het Mg-gehalte in het bloedplasma en de stofwisselingsziekte van het melkvee, waaraan in ons land de naam 'kopziekte' werd verbonden, nam de belangstelling voor de Mg-stofwisseling sterk toe.

Uit het nu klassieke onderzoek van SJOLLEMA en SEEKLES (1929) en van SJOLLEMA (1930) is gebleken, dat een verlaagd Mg-gehalte van het bloedplasma, dat normaal ongeveer 2,5 mg% bedraagt, het meest constante symptoom van de kopziekte is. In een groot aantal gevallen bleek ook het Ca-gehalte van het bloedplasma lager te zijn dan het normale gehalte van ca. 10 mg%. Deze uitkomsten zijn later herhaaldelijk bevestigd. Het is daarom niet verwonderlijk, dat verschillende onderzoekers het ontstaan van de hypomagnesaemie die aan de kopziekte voorafgaat, hebben willen verklaren uit tekorten aan Mg en Ca in de rantsoenen. Anderen echter konden een tekort aan Mg in het voedsel als primaire oorzaak van de kopziekte moeilijk aanvaarden. Volgens hen zou de Mg-opname met het voer ruimschoots in de behoefte van het melkvee voorzien. Op grond van theoretische overwegingen en op grond van vergelijkingen met andere diersoorten zou men inderdaad moeten besluiten, dat het voedsel van het rund altijd voldoende Mg bevat om in zijn behoefte te voorzien.

Uitgebreide proefnemingen in de laatste jaren over de Mg-behoefte van het melkvee hebben echter aangetoond, dat het rund veel meer Mg nodig heeft dan

niet-herkauwers. De oorzaak daarvan bleek gelegen in de dikwijls zeer geringe resorbeerbaarheid van het Mg uit het voer van herkauwers. MEYER (1963) berekende uit de uitkomsten van 284 balansproeven met rantsoenen, die representatief voor de algemene veevoeding kunnen worden geacht, een gemiddelde schijnbare resorptiecoëfficiënt van 23,4 met een variatie van 0 tot 58 %. In 70 % van alle proeven lagen de waarden tussen 15 en 35 %. Onder schijnbare resorptiecoëfficiënt wordt verstaan: het deel van de opgenomen hoeveelheid voeder magnesium, dat niet met de faeces wordt uitgescheiden, uitgedrukt in procenten van de totale hoeveelheid in het voer. Hier is sprake van de schijnbare resorptiecoëfficiënt, omdat geen rekening werd gehouden met de endogene fractie van het Mg in de mest.

Verder is gebleken, dat Mg uit hooi over het algemeen beter resorbeerbaar is dan Mg uit gras. ROOK et al. (1958a, b) in Engeland en KEMP en medewerkers (1960) in Nederland vonden in proeven met melkkoeien, waaraan grasrantsoenen werden verstrekt, een gemiddelde schijnbare resorptiecoëfficiënt voor het Mg van slechts 17 % met een spreiding van 5 tot 27 %.

De schijnbare resorptiecoëfficiënt van het Mg is bij kleine laboratoriumdieren doorgaans veel groter dan die bij herkauwers. Zo werd voor ratten een coëfficiënt van 50,7 % berekend, terwijl voor cavia's en konijnen zelfs waarden van 65 tot 86 % werden gevonden (MEYER, 1963). Dat ook herkauwers onder bepaalde omstandigheden in staat zijn een groot gedeelte van het voeder magnesium te gebruiken, is gebleken uit proeven, waarbij aan melkkoeien een kunstmatig rantsoen werd verstrekt, dat bestond uit papierpulp met melasse, maïs en bloedmeel. Op dit rantsoen werd het Mg voor meer dan 60 % gebruikt (ROOK en ROWLAND, 1962).

Uit een en ander blijkt, dat het rantsoen een grote invloed heeft op de mate waarin het Mg wordt geresorbeerd. Oorzaken hiervan zouden kunnen zijn dat de concentratie en de toestand waarin het Ca en Mg in de darminhoud verkeren, alsmede de wijzigingen daarvan tijdens de gang door het maagdarmkanaal, bepalend zouden zijn voor de mate van resorptie. De studie van deze factoren was het doel van het onderzoek.

Met dit onderzoek hopen wij vooral het 'kopziekteonderzoek' te bevorderen door het verstrekken van gegevens betreffende de fysiologie van de Mg-stofwisseling bij melkkoeien.

Behalve aan het Mg is bij ons onderzoek ook aan het Ca veel aandacht geschonken en wel omdat beide elementen, chemisch beschouwd, veel overeenkomst vertonen. Bovendien is uit balansproeven gebleken, dat ook het Ca uit herkauwersrantsoenen dikwijls zeer onvolledig gebruikt wordt en verder dat het gebruik uit diverse rantsoenen sterk uiteen kan lopen. Zo vonden VISEK et al. (1953) bij melkkoeien met de zg. isotopen-verdunningsmethode, dat de resorptiecoëfficiënt van het Ca, voorkomende in rantsoenen die uit hooi en krachtvoer bestonden, varieerde van 7 tot 56 %. Een verklaring voor deze grote verschillen zou misschien gevonden kunnen worden in de lotgevallen van het Ca in het maagdarmkanaal.

Daarom is de verdeling van het Ca en het Mg en enkele andere mineralen (Na, K en P) over het ultrafiltreerbare en het niet-ultrafiltreerbare gedeelte van de mest en de darminhoud van koeien bij uiteenlopende voederrantsoenen onderzocht. Veel aandacht werd geschonken aan het vaststellen van de fysisch-chemische vorm van het Ca en het Mg in de darminhoud. Verschillende methoden zijn getoetst op hun geschiktheid om de ionenconcentratie van Ca en Mg in de darminhoud op verschillende rantsoenen te meten. Een van die methoden zal met de uitkomsten, daarmee verkregen, uitvoerig worden beschreven.

Voorts werd met behulp van Cr_2O_3 als inerte merksubstantie zowel bij dode als bij levende dieren door ons nagegaan hoeveel chymus er dagelijks door het begin van de dunne darm en door de blinde darm stroomde en hoeveel mest er werd uitgescheiden. Na het bepalen van de gehalten der minerale bestanddelen in de inhoud van het begin van de dunne darm en de blinde darm en in de mest, hebben wij de grootte van de netto-resorptie in de dunne en dikke darm berekend.

Aangezien een elektrisch potentiaalverschil mogelijk van invloed is op de verplaatsing van geladen deeltjes van het darmlumen naar het bloed, hebben wij bovendien in enkele proeven dit potentiaalverschil tussen het bloed en de duodenuminhoud resp. ileuminhoud bepaald bij een koe, waarbij fistels in het duodenum en in het ileum waren geplaatst.

Met dit onderzoek werd het mineralenstofwisselingsonderzoek zoals dat al sinds jaren aan het laboratorium voor Fysiologie der Dieren van de Landbouwhogeschool werd verricht, voortgezet. Nadat eerder veel aandacht aan de gehalten der verschillende mineralen in de voedermiddelen en hun onderlinge verhoudingen was gegeven (BROUWER en VAN DE VLIERT, 1951; BROUWER, 1951a, 1951b; BROUWER en BRANDSMA, 1953; BRANDSMA, 1954) werd door VAN WEERDEN (1959) een begin gemaakt met het onderzoek naar de toestand van de mineralen in de darminhoud in verband met de resorptie van die bestanddelen. Uit het onderzoek van VAN WEERDEN werden belangrijke inlichtingen verkregen betreffende de osmotische waarde van de darminhoud en het gedrag van de opgeloste bestanddelen, met name van het Na en het K in de darminhoud. Over de lotgevallen van het Ca en het Mg konden echter geen definitieve conclusies worden getrokken. Wij hebben daarom in het bijzonder het gedrag van de aardalkalimetalen in de darminhoud onderzocht.

Dit onderzoek werd op initiatief van prof. dr. E. BROUWER verricht in opdracht van de Nationale Raad voor Landbouwkundig Onderzoek T.N.O.

1. LITERATUURONDERZOEK

In dit hoofdstuk zal aan de hand van de literatuur worden nagegaan, waar de resorptie van het Ca en het Mg in het maagdarmkanaal plaats heeft. Er zal aandacht worden geschonken aan de morfologische bouw van de darmwand, die door deze mineralen en andere bestanddelen van het rantsoen gepasseerd moet worden om van de darminhoud in het bloed te komen. Vervolgens zal het resorptiemechanisme worden besproken, eerst in het algemeen en daarna meer in het bijzonder dat van het Ca en het Mg. Ten slotte zullen enige literatuurgegevens betreffende de toestand van het Ca en het Mg in de darminhoud van herkauwers aandacht krijgen.

1.1 DE PLAATS VAN DE RESORPTIE VAN HET CALCIUM EN HET MAGNESIUM

Veel van onze kennis omtrent de resorptie van het Ca en het Mg is ontleend aan uitkomsten van resorptieproeven met *laboratoriumdieren*. Wat in het bijzonder het Ca betreft hebben zowel in-vitro-proeven met geïsoleerde darmlussen als in-vivo-proeven geleerd, dat deze resorptie voornamelijk in de dunne darm plaats heeft. Herhaaldelijk is vastgesteld, dat zij het snelst verloopt in dat gedeelte van de dunne darm, dat onmiddellijk distaal van de maag is gelegen en verder dat de snelheid van de resorptie distaalwaarts in de darm geleidelijk vermindert (NICOLAYSEN, 1951; HARRISON en HARRISON, 1951; FOURNIER, 1950; SCHACHTER et al., 1960a; LENGEMANN en COMAR, 1961; CRAMER en COPP, 1959; WASSERMAN, 1962; THOMAS et al., 1954). Er zou echter ook resorptie van Ca (CRAMER en COPP, 1959) en van Mg (CHUTKOW, 1963) in de dikke darm van raten zijn waargenomen. Bij konijnen kon AIKAWA (1959) geen resorptie van enige betekenis in de dikke darm aantonen.

Bij de *landbouwhuisdieren* heeft de resorptie van de aardalkaliën eveneens voornamelijk in de dunne darm plaats. In proeven, waarbij het verdwijnen van Ca uit de verschillende delen van de darm van *varkens* werd onderzocht, vonden MOORE en TYLER (1955) vier uren na het voeren, dat de Ca-resorptie het snelst was verlopen in het proximale vierde gedeelte en die van de P in de proximale helft van de dunne darm.

Ook herkauwers werden onderzocht. In proeven met geënaestheseerde *schapen*, waarbij het *reticulo-rumen* werd geïsoleerd door het afbinden van de slokdarm en de boekmaag kon STORRY (1960) geen resorptie van Ca of Mg uit het *reticulo-rumen* vaststellen, ook al waren de gehalten aan deze elementen in de proefoplossingen 60 meq/l. De proefoplossingen werden via een fistel in de pens gebracht, nadat het *reticulo-rumen* met een fysiologische zoutoplossing was gewassen. In andere proeven is gebleken, dat eerst bij zeer hoge gehalten aan Mg, hoger dan 80 meq/l, ook in deze organen netto-resorptie van Mg optreedt (STEWART en MOODIE 1956; CARE en VAN 'T KLOOSTER, 1965). Hoewel de wand van het *reticulo-rumen* van het schaap wel permeabel voor Mg^{2+} is gebleken

(CARE, 1960), vindt er dus onder gewone omstandigheden blijkbaar geen resorptie van Mg in dit orgaanstelsel plaats (PHILLIPSON en STORRY, 1965; CARE en VAN 'T KLOOSTER, 1965).

Naar de plaats, waar de resorptie van het Ca en het Mg zich dan wel voltrekt, werd bij schapen een onderzoek ingesteld door STORRY (1960). Bij proefschapen, die voorzien waren van zogenaamde 'double reëntrant'-fistels (ASH, 1962) in verschillende delen van de dunne darm, werden darmlussen geïsoleerd en uitgewassen. Vervolgens werden in deze lussen proefoplossingen met anorganische zouten gebracht en na één of twee uren daaruit weer verzameld. Het verschil tussen de hoeveelheid van een elektrolyet in de proefoplossing en in de vloeistof die na de proef uit de darmlus werd verzameld, werd als maatstaf voor de netto-resorptie, respectievelijk -secretie genomen.

Een netto-resorptie van het Ca werd gevonden in het duodenum en het jejunum, waarbij bleek, dat de resorptie afhankelijk was van het Ca-gehalte in de gebruikte proefoplossingen. Wanneer deze gehalten hoger waren dan 4 meq/l, dan werd ook resorptie aangetoond in een lus die uit het midden van de dunne darm was gekomen. In dit gedeelte van de darm was de resorptie van het Ca minder snel dan in het begin van de dunne darm. In het laatste gedeelte van de dunne darm was de secretie van Ca steeds sterker dan de resorptie.

De proeven van STORRY zijn door SCOTT (1965a) herhaald. Met kleine wijzigingen in de techniek van STORRY vond SCOTT dat de resorptie van het Ca in het begin van de dunne darm zeer snel verliep en caudaalwaarts verminderde. In het einde van de dunne darm vond hij, evenals STORRY, geen netto-resorptie maar een netto-secretie. Terwijl de resorptie van het Ca toenam met het stijgen van de gehalten aan Ca in de proefoplossingen, kon voor het Mg een dergelijk verband tussen resorptie en gehalten der proefoplossingen niet worden vastgesteld.

De resorptie van het Mg werd in de proeven van STORRY en SCOTT steeds zeer onregelmatig bevonden, hetgeen mogelijk te wijten was aan de gebruikte methode. Door aan proefoplossingen een inerte merksubstantie (polyethyleenglycol = P.E.G.) toe te voegen en de resorptie van het Ca en Mg te berekenen door de gehalten der aardalkaliën vóór en na de proefperiode te betrekken op de gehalten van die merksubstantie, kon door ons (CARE en VAN 'T KLOOSTER, 1965) eveneens bij schapen worden aangetoond, dat in Thiry-Vella-fistels uit het midden van de dunne darm van schapen naast resorptie van Ca ook resorptie van Mg plaats vond. Netto-resorptie van Mg werd nl. gevonden wanneer de gehalten aan Mg in de proefoplossingen hoger waren dan ongeveer 3 meq/l. Verhogen van de gehalten aan Mg in de proefoplossingen tot ongeveer 6 meq/l had een geleidelijke stijging van de resorptie ten gevolge. Werden de gehalten echter nog verder verhoogd, dan nam in dit darmgedeelte de resorptie maar weinig meer toe.

Bij proeven met schapen waaraan oraal of intraveneus Mg²⁸ werd toegediend, kon FIELD (1961) uit de specifieke activiteit van de darmwand en de darminhoud afleiden, dat het middelste derde gedeelte van de dunne darm de belangrijkste plaats voor de Mg-resorptie moet zijn.

Ook bij *kalveren* heeft de resorptie van het Ca en het Mg in de dunne darm plaats (SMITH, 1959, 1962). Om de plaats van de resorptie bij deze dieren nader te bepalen, onderzocht SMITH (1965) de darminhoud van kalveren, die waren geslacht 2 $\frac{1}{2}$ uur na het verstrekken van een calcium- en magnesiumoplossing, waaraan nog glucose en P.E.G. waren toegevoegd. Uit de verhoudingen van aardalkaliën P.E.G. kon worden afgeleid, dat de Ca-resorptie zeer sterk was in het duodenum en meer naar achteren in de darm afnam. In het einde van de dunne darm kon geen resorptie van Ca meer worden vastgesteld. Wat de resorptie van het Mg betreft, werd in de lebmaag en het eerste vierde gedeelte van de dunne darm een netto-secretie gevonden, gevolgd door een geleidelijk toenemende resorptie tot in het midden van de dunne darm. In het einde van de dunne darm werd, evenals bij het Ca, geen Mg-resorptie meer waargenomen.

Bij kalveren van twee tot vier weken oud werd 25 tot 40% van het verstrekte Mg geresorbeerd in de dikke darm. In de dikke darm van kalveren van 6 tot 12 weken had echter geen resorptie van Mg meer plaats.

In de dikke darm van volwassen runderen heeft een levendige resorptie plaats van Na en van K (VAN WEERDEN, 1959). Resorptie van Ca en Mg in de dikke darm van runderen is echter van geen betekenis, wanneer de gehalten dezer aardalkaliën niet vele malen hoger zijn dan gewoonlijk in dat darmgedeelte worden gevonden (STEWART en MOODIE, 1956).

In verschillende proeven werd een *excretie* van het Ca in de dikke darm van proefdieren gevonden (MITCHELL, 1964). In andere proeven, waarbij het Ca in het lichaam werd gemerkt met Ca⁴⁵, werd gevonden dat slechts 5 tot 20% van het Ca⁴⁵ het lichaam met de mest verliet. Uit deze proeven werd besloten, dat de excretie van Ca in de dikke darm, zo deze al voorkomt, niet van grote betekenis is (WISEMAN, 1964). Hiermee in overeenstemming is de bevinding, dat de endogene Ca-uitscheiding bij koeien (VISEK et al., 1953) en schapen (LUECKER en LOFGREEN, 1961) slechts kleine verschillen vertoonde, wanneer rantsoenen met lage en met zeer hoge Ca-gehalten werden verstrekt. In een onderzoek naar de resorptie en excretie van Ca en P bij varkens konden MOORE en TYLER (1955) geen excretie van deze elementen in de dikke darm vaststellen.

Herkauwers, die gewoonlijk een sterk basevormend rantsoen gebruiken, scheiden slechts weinig Ca met de urine uit, terwijl met de mest grote hoeveelheden Ca het lichaam verlaten. Het ligt daarom voor de hand te veronderstellen, dat het 'overtollige' Ca in het lichaam via de darm wordt uitgescheiden. Het is echter, voor zover ons bekend is, nog nimmer aangetoond, dat bij herkauwers naast secretie van Ca met de digestiesecreten, ook nog excretie in de dikke darm plaats heeft.

Samenvattend kan worden gezegd, dat bij herkauwers de resorptie van het Ca en het Mg plaats heeft in de dunne darm. De resorptie van Ca verloopt het snelst in het begin van de dunne darm. In dit gedeelte van de darm is de resorptie van het Mg gewoonlijk van geringe omvang. Het middelste gedeelte van de dunne darm is voor de resorptie van dit element de belangrijkste plaats.

De bijdrage die een darmsegment levert in de totale resorptie van een element, is, behalve van de snelheid van de resorptie, ook afhankelijk van het resorberende oppervlak van dat segment en van de tijd, gedurende welke er contact bestaat tussen chymus en darmwand (MITCHELL, 1964).

MARCUS en LENGEMANN (1962) bepaalden de stroomsnelheid van de chymus in de darm van ratten met behulp van Y^{91} als merksustantie. Zij vonden, dat de chymus in het duodenum ongeveer 20 maal sneller stroomde dan in het ileum. Het gevolg daarvan zal zijn, dat de chymus slechts korte tijd in het duodenum verblijft en geruime tijd in het ileum wordt opgehouden.

Bij ratten (MARCUS en LENGEMANN 1962) en honden (CRAMER, 1965) werd aangetoond dat ongeveer 65% van de resorptie van het Ca plaats vond in het ileum. In het duodenum en jejunum werd ongeveer 15, respectievelijk 20% van het Ca geresorbeerd. LENGEMANN (1963) zegt hiervan: 'the data emphasize that, although the duodenum may have a high rate of absorption, the speed at which material traverses this segment makes its contribution to the over-all absorption rather small. Conversely, the ileum with its lower rate of absorption becomes very important in the absorption of Ca and Sr.' Dit moge juist zijn voor ratten en andere monogastrische dieren, waarbij grote verschillen in de stroomsnelheid van de chymus in het duodenum en het ileum niet ongewoon zijn, bij herkauwers, waarbij de chymusstroom door de dunne darm geleidelijker is dan bij dieren met enkelvoudige maag, ligt dit mogelijk anders (PHILLIPSON, 1952).

Er is echter nog nauwelijks opzettelijk onderzoek verricht naar de invloed van de stroomsnelheid van de chymus op de resorptie. Dikwijls wordt stilzwijgend aangenomen, dat in de normaal functionerende darm de resorptie van de opgeloste bestanddelen doorgaat tot er een evenwicht (steady state) is bereikt tussen het lichaam en de darminhoud. Het lijkt echter zeer waarschijnlijk, dat deze steady state niet altijd wordt bereikt en dat de mate van resorptie, vooral van die bestanddelen die de darmwand traag passeren, afhankelijk is van de tijd gedurende welke er contact is tussen de darminhoud en het resorberende oppervlak, d.w.z. de darmwand.

In proeven met kalveren, die uitsluitend een melkrantsoen met P.E.G. kregen, heeft SMITH (1962) dan ook een positieve correlatie vastgesteld tussen de nettoresorptie van het Mg in de dunne darm en de tijd, die verstreek tussen het voeren en het moment waarop voor het eerst P.E.G. in de chymus aan het einde van de dunne darm kon worden aangetoond. Deze kalveren waren voorzien van fistels in het duodenum en het ileum. Voor ieder uur, dat de digesta langer in de lebmaag en de dunne darm te zamen werden opgehouden, bedroeg de meerresorptie $8,5 \pm 2\%$ van het Mg uit het voedsel. De variaties tussen de kalveren waren groter dan die binnen de kalveren. SMITH veronderstelt daarom, dat de grote verschillen in de beschikbaarheid van het Mg bij overigens goed vergelijkbare proefdieren en proefrantsoenen, voor een belangrijk deel veroorzaakt worden door verschillen in de tijd gedurende welke de digesta in de dunne darm worden opgehouden.

Bij kalveren van 1 tot 17 weken oud op een melkrantsoen had de chymus 2,00 tot 5,25 h met een gemiddelde van $3,7 \pm 0,2$ h nodig om de lebmaag plus dunne

darm te passeren. Het oponthoud in de lebmaag duurde ongeveer een half uur met geringe verschillen tussen de dieren. In 15 proeven met 3 kalveren, die een rantsoen van *hooi* en *krachtvoer* kregen, kon $2,7 \pm 0,2$ h na het toedienen van P.E.G. via een fistel in het duodenum, deze merksubstantie worden aangetoond in de chymus uit het einde van de dunne darm. Bij de afzonderlijke proeven lagen de tijden tussen 1,25 en 4,0 h. Nadat het rantsoen van twee der kalveren was vervangen door voorjaarsgras, werd bij een der dieren geen verandering van betekenis in de passagetijd waargenomen, terwijl die tijd bij het andere dier geleidelijk verminderde van 3,5 tot 1,25 h in een tijdsbestek van 4 weken. De beschikbaarheid van het Mg zou daardoor bij dit dier aanzienlijk verminderd kunnen zijn.

Ook bij schapen is een enkele maal de tijd bepaald gedurende welke de spijsbrij in de dunne darm werd opgehouden (COOMBE en KAY, 1965). Bij drie schapen die voorzien waren van fistels in het duodenum en het ileum varieerde de gemiddelde passagetijd van 2,3 tot 4,5 uur.

Het bovenstaande doet vermoeden, dat verschillen in de passagetijd van de chymus door de dunne darm mogelijk bijdragen tot verschillen in de mate van resorptie.

1.2 DE DARMWAND

De resorptie van het Ca en het Mg heeft blijkens het voorgaande plaats in de dunne darm, evenals die van vele andere stoffen. Tijdens de resorptie verlaat een stof het darmlumen, trekt door het epithelium, passeert het bindweefsel van de tunica propria en treedt in de eindvertakkingen van bloed- of lymfevaten. De weefsellagen die tussen het darmlumen en de intramurale vaten zijn gelegen, zijn waarschijnlijk betrokken bij de regulering van de resorptie (LASTER en INGELFINGER, 1961). De morfologische kenmerken van deze lagen kunnen ons enig inzicht verschaffen in hun functie. Een gedetailleerde beschouwing zou ons te ver van ons eigenlijke onderwerp voeren. Wij zullen daarom volstaan met een globale beschrijving van de dunne darm en voor het overige verwijzen naar het uitstekende overzichtsartikel van LASTER en INGELFINGER (1961).

De dunne darm van koeien is ongeveer 40 m lang en heeft een diameter van 3 à 4 cm. Het duodenum, dat onmiddellijk achter de lebmaag is gelegen, is ruim 1 m lang. Vóór de ileo-caecale overgang is de dunne darm over een lengte van ongeveer 1 m recht. Het tussenliggende deel verloopt sterk gekronkeld en vormt een krans rond de windingen van de dikke darm. Een scheiding van jejunum en ileum is op anatomische gronden niet te maken.

Van darmlumen naar buikholte kunnen aan de darmwand de volgende lagen onderscheiden worden: de mucosa of het slijmvlies, welke bestaat uit het epithelium en de tunica propria, de submucosa, de tunica muscularis die uit een circulaire en een longitudinale laag van gladde spiercellen bestaat en de dunne subserosa met de serosa. Het slijmvliesoppervlak van de dunne darm toont schuin lopende plooien, genoemd naar KERCKRING. Op het darmoppervlak bevinden zich talrijke vlokken (darmvlokjes of villi), die in hoogte kunnen wisselen

van 200 tot 1000 micron. De vlokjes zijn bekleed met epitheliumcellen, die voor de resorptie van het grootste belang zijn. Tevens zijn er bekercellen, die slijm vormen en dit afscheiden naar het darmlumen. De epitheliumcellen staan op een basale membraan die grenst aan het bindweefsel van de tunica propria van de vlokjes. De tunica propria vormt de spil van de villi en bevat een sterk vertakt capillair netwerk van bloedvaten, vlak onder de basale membraan. Centraal in de vlokjes loopt een betrekkelijk groot chylusvat, omgeven door glad spierweefsel en geflankeerd door een kleine arterie aan de ene zijde en een adertje aan de andere zijde.

Deze villi zijn tijdens de resorptie in voortdurende beweging door zich afwisselend te verkorten en weer te strekken (HAMBLETON, 1914; VERZÁR en KOKAS, 1927). Ieder vlokje zou onafhankelijk van de anderen contraheren met een ritme van ongeveer 6 contracties per minuut, althans bij carnivoren. Tijdens een contractie, tot ongeveer de halve lengte, wordt het vlokje nauwelijks dikker, zodat blijkbaar een deel van de inhoud, waarschijnlijk chylus, wordt uitgedreven. Dit laatste is mogelijk van groot belang voor de resorptie. De bewegingen van de vlokjes worden vermoedelijk gereguleerd door de Meissnerse (zenuw)plexus en kunnen worden beïnvloed door verschillende stoffen (physostigmine, gistextract, aminozuren, cocaïne). Onder normale omstandigheden zou een hormoon, villikinine genaamd, de vlokjes tot contracties stimuleren.

Tussen de villi bevinden zich instulpingen in de darmwand, de crypten of kliertjes van LIEBERKÜHN, die darmsap vormen. Van deze crypten uit wordt het epithelium van de vlokjes geregeld vernieuwd. Bij de overgang van crypten naar villi komen veel delingen van epitheliumcellen voor; deze cellen schuiven naar de top van de villi toe en worden daar afgestoten (LE BLOND en MESSIER, 1958). De levensduur van de epitheliumcellen is zeer kort: 2 à 3 dagen bij muizen en ongeveer 1,6 dagen bij mensen (BERTALANFFY en NAGY, 1958). Er is derhalve een zeer levendige celvernieuwing van het epithelium. De betekenis hiervan is nog onvolledig bekend. Wellicht is zij nodig vanwege het voortdurend contact met de zeer agressieve darminhoud. Men denke maar aan de daarin aanwezige enzymen en bacteriën. Wat de functie ook moge zijn, het voortdurend ruïen van het darmepithelium is oorzaak van de overgang van intracellulaire bestanddelen naar de darminhoud. Deze zullen slechts ten dele opnieuw geresorbeerd worden.

Dank zij de ontwikkeling van de elektronenmicroscopie heeft men de structuur van de epitheliumcellen nader kunnen bestuderen. De resorberende epitheliumcellen zijn naar het darmlumen begrensd door een smalle band, die al van ouds bekend staat als borstelzoom. In de beelden van het elektronenmicroscop blijkt deze borstelzoom opgebouwd te zijn uit slanke, vingervormige, regelmatig gerangschikte uitstulpingen van de cel. Deze 'microvilli' bewerkstelligen een 24 à 30-voudige vergroting van het binnenoppervlak van de darm. Bij ratten heeft elke resorberende epitheliumcel 700 tot 1000 microvilli (PALAY en KARLIN, 1959).

De celmembraan van de epitheliumcel, die het aspect heeft van 2 evenwijdige donkere lijnen, gescheiden door een lichtere lijn, zet zich zonder onderbreking voort op de microvilli (FINEAN, 1962). Met het elektronenmicroscop, waarvan

het oplossend vermogen 20 à 30 Ångström bedraagt, zijn nimmer duidelijke poriën waargenomen. MILLINGTON en FINEAN (1962) zouden echter vage aanduidingen van poriën hebben waargenomen in de membraan van de microvilli na behandeling van het epithelium met hypotonische oplossingen.

Op grond van een kritische beschouwing van onderzoeken aan celmembranen komt BOOY (1962) tot de conclusie, dat er geen permanente 'georganiseerde' poriën in de celmembraan voorkomen. Onder georganiseerde poriën verstaat hij openingen bekleed met een mono-moleculair eiwitlaagje in de overigens continue, zeer dunne laag lipoid van de celmembraan. Wel zouden er als gevolg van de thermische beweging der moleculen geregeld hier en daar openingen tussen de moleculen vallen. Door deze mazen in het moleculaire netwerk zouden de niet in vet oplosbare stoffen in de cel binnengehaald kunnen worden.

Tussen de aan elkaar grenzende cellen is een afscheiding, die bestaat uit 2 donkere lagen waartussen een lichte laag, die vet zou bevatten (ZETTERQUIST, 1956). In betrekkelijk zeldzame gevallen zijn met het elektronenmicroscop aanwijzingen verkregen, dat lymphocyten of eosinofiele cellen van de tunica propria tussen de epitheliumcellen door naar het darmlumen zouden trekken en dat voorts bepaalde bestanddelen in de tegenovergestelde richting kunnen gaan (PALAY en KARLIN, 1959). Over het algemeen echter vormen de epitheliumcellen een gesloten barrière.

In de volgende paragraaf zal aandacht worden geschonken aan het transport door de darmwand van de bestanddelen die voor het lichaam noodzakelijk zijn.

1.3 HET RESORPTIEMECHANISME

De wijze waarop de resorptie van essentiële bestanddelen verloopt, had reeds in de vorige eeuw de belangstelling der fysiologen. Aanvankelijk scheen het transport van stoffen uit het maagdarmkanaal een eenvoudige zaak te zijn, waarvoor louter fysische processen, zoals filtratie, diffusie en osmose voldoende schenen.

POISEUILLE (1844), VOIT en BAUER (1869) en anderen huldigden nog de opvatting, dat de resorptie met de theorie van de osmose en de endosmose goed kon worden verklaard. Toch waren er in die tijd reeds onderzoekers die de werking van speciale, aan de levende cel gebonden krachten ('fysiologische Triebkraft', 'vital force') te hulp riepen (HOPPE-SEYLER, 1881; COHNHEIM, 1898; REID, 1898). Deze tegenstelling tussen 'mechanisten' en 'vitalisten' was aanvankelijk zeer scherp; later kwamen de standpunten dicht bij elkaar.

Een belangrijke invloed hebben de proefnemingen van HEIDENHAIN (1894) en zijn medewerkers in deze strijd gehad. HEIDENHAIN kwam naar aanleiding van uitgebreide en nauwgezette proeven tot de conclusie, dat filtratie, diffusie en osmose niet voldoende zijn om de resorptie van zouten en water uit de dunne darm van de hond te verklaren. Hij nam aan, dat de darmwand een 'fysiologische Triebkraft' bezit, die echter werkt naast de osmotische krachten.

Daarmede was de strijd nog niet beslecht. HÖBER (1898) hield aanvankelijk nog vast aan de opvatting dat de resorptie vooral door diffusie en osmose tot stand

komt en onze landgenoot HAMBURGER (1904) legde meer de nadruk op de invloed die moleculaire en capillaire imbibitie, alsmede de hydrostatische druk in de darm en in de buikholte, zouden kunnen hebben.

Geleidelijk echter ging men inzien, dat de bekende fysisch-chemische wetten niet toereikend zijn om het resorptiemechanisme bevredigend te verklaren. Zo erkende ook HÖBER (1924), die aanvankelijk de mechanistische opvatting was toegedaan, dat aan de epitheliumcel ongetwijfeld een bijzondere kracht moest worden toegekend. Tegelijkertijd echter werd het duidelijk, dat het wezen van die speciale 'vitale' krachten was gelegen in de stofwisselingsprocessen, die zich in de cel afspelen en waarbij energie wordt gebruikt.

Mede door het werk van USSING (1949) komt men thans meer en meer tot een opvatting, die in overeenstemming is met een voorspelling, door GOLDSCHMIDT (1921) gedaan in een uitvoerig overzichtsartikel van de theorieën die tot 1920 ter verklaring van de darmresorptie zijn opgesteld: 'When one considers the subject intensively, one gains more and more the impression that the final analysis must lie in these realms that it awaits only the development of the fundamental subject of physical chemistry and the persistent application of its principals to biological sciences'.

De resorptie uit de darm is ook heden ten dage nog lang niet bevredigend verklaard. Volgens sommigen (FREY-WYSLING, 1962) zou de resorptie tot stand komen door pinocytose: een proces, dat enige overeenkomst vertoont met de phagocytose van amoeben (LEWIS, 1931). Vloeistofdruppeltjes zouden in contact komen met de membraan van een epitheliumcel. Deze membraan zou vervolgens instulpen en het druppeltje zou in de instulping zakken, waarna de celmembraan zich weer zou sluiten. De druppel zou dan geheel omgeven zijn door een protoplasmalaagje en een vloeistofblaasje in de cel vormen. De inhoud van dat blaasje zou aan de laterale of de basale zijde van de cel weer vrijkomen. Tot staving van deze opvatting voert men aan, dat de celmembranen in de beelden, verkregen met het elektronenmicroscop, meermalen instulpingen te zien geven. Ook worden er blaasjes in de cel waargenomen; maar daaraan kan niet veel bewijskracht worden toegekend.

De betekenis van de pinocytose voor de resorptie in de darm is nog onzeker (PALAY en KARLIN, 1959). De resorptie van eiwitmoleculen (gammaglobuline) in de darm van pasgeborenen komt volgens CLARK (1959) zeer waarschijnlijk door pinocytose tot stand. Of ook bij oudere dieren dit mechanisme nog voorkomt, wordt door verschillende onderzoekers betwijfeld (HOBGEN, 1960). Het is trouwens duidelijk, dat er bij de pinocytose geen belangrijke mate van specificiteit kan bestaan. Uit een groot aantal proeven, waarbij uiteenlopende methoden werden toegepast (BERGER, 1963), is juist gebleken, dat de darmmucosa in hoge mate selectief is. Deze eigenschap wordt toegeschreven aan de cellen van het darmepithelium en wel met name aan de, naar het darmlumen gekeerde, celmembraan.

Zo zijn de verschillende suikers zeer verschillend gebleken wat betreft de opname door de darmwand (CORI, 1931). Er zijn suikers (xylose) waarvan de op-

name stijgt met verhoging van de concentratie. Andere (glucose en galactose) trekken zich van concentratieverhoging weinig aan; deze worden, ondanks hun grotere molecuul-volume, sneller opgenomen dan de pentosen.

Vergiftiging van de darmwand met phloridzine remt de opname van glucose en galactose sterk, terwijl die van de andere onderzochte koolhydraten onveranderd blijft. Zeer karakteristiek is ook het feit, dat van de optische isomeren de L-vormen van de aminozuren veel sneller worden opgenomen dan de onnatuurlijke D-vormen.

Ook bij de resorptie van de anorganische bestanddelen is gebleken, dat sommige ionen zeer snel en andere traag verdwijnen uit zoutoplossingen, die in afgebonden darmlussen werden gebracht. Zo vonden GOLDSCHMIDT en DAYTON (1919) voor het colon van de hond, dat uit een mengsel van isotonische oplossingen van Na_2SO_4 en NaCl de chloorionen snel verdwenen, terwijl de sulfaat-ionen bijna niet opgenomen werden. De concentratie van de chloorionen werd in de darm zelfs 200 maal zo laag als in het bloed. Bij aanwezigheid van MgCl_2 werd Na tegen een groot concentratieverschil in geresorbeerd en zowel Cl als Na werden door de darmwand tegen een aanzienlijk concentratieverschil in opgenomen, indien MgSO_4 aan de darminhoud werd toegevoegd. De Mg- en sulfaat-ionen werden daarentegen slecht opgenomen.

INGRAHAM en VISSCHER (1937, 1938) voerden bij honden resorptieproeven uit in het achterste gedeelte van het ileum. Bij aanwezigheid van polyvalente anionen werd Cl tegen een groot concentratieverval in geresorbeerd. Bij aanwezigheid van polyvalente kationen werd Na tegen een aanzienlijk concentratieverval in geresorbeerd. Dit zelfde was het geval wanneer de slecht resorbeerbare stof saccharose in de darminhoud aanwezig was. Het bleek, dat de resorptie van de genoemde eenwaardige ionen tegen een concentratieverval in, werd verhinderd door verschillende vergiften zoals NaF en NaCN.

In deze en vele andere gevallen is het onmogelijk gebleken om een relatief eenvoudige fysisch-chemische verklaring van het proces te geven. Er zijn in de latere jaren echter verklaringen opgesteld, die een actieve aanwending van energie aannemen (actief transport) (USSING, 1954). De meeste onderzoekers nemen aan, dat de passieve penetratie van ionen (passief transport) en het actief transport naast elkaar verlopen. Wij zullen thans achtereenvolgens het passieve en het actieve transport door celmembranen bespreken.

1.3.1 *Passief transport*

Passief transport kan plaats vinden door diffusie, d.w.z. door de thermodynamische beweging der deeltjes. Opgeloste stoffen diffunderen van een plaats met een hoge naar een plaats met een lage concentratie. De verplaatsing van een vloeistof door een membraan die permeabel is voor die vloeistof naar de kant van de sterkere concentratie van niet doorgelaten deeltjes wordt osmose genoemd. Het transport van geladen deeltjes (ionen) van de zijde, die relatief rijk is aan elektrische lading, overeenkomende met die van deze deeltjes, naar een met minder sterke lading van gelijk teken of met een tegengestelde lading, noemt men eveneens passief. De richting, waarin de netto-verplaatsing der deeltjes ver-

loopt, wordt bepaald door de richting van de elektro-chemische gradient. Ook een dergelijk proces wordt passief genoemd omdat geen energie wordt toegevoegd.

De elektro-chemische gradient bestaat uit twee componenten, een fysisch-chemische component die zijn oorsprong vindt in het concentratieverschil en bovendien een elektrische component, die bepaald wordt door het potentiaalverschil tussen de fasen aan weerszijden van de membraan. Herhaaldelijk is de waarneming gedaan dat epitheliumweefsels een potentiaalverschil handhaafden tussen de morfologische buitenkant en de morfologische binnenkant (de kant van het bloed). De binnenkant van de amphibie huid (USSING, 1954), de tunica-propriazijde van het pensepithelium der herkauwers (DOBSON, 1959), het colon-epithelium van ratten (CURRAN en SCHWARTZ, 1960) en het dunne-darm-epithelium van schapen (SCOTT, 1965b) zijn positief ten opzichte van het lumen. Het is te verwachten dat dit potentiaalverschil de resorptie van positief geladen deeltjes uit het maagdarmkanaal tegenwerkt en de resorptie van negatief geladen deeltjes stimuleert.

Een ongelijke verdeling van ionen aan weerszijden van een membraan tengevolge van een Donnan-evenwicht komt eveneens passief tot stand.

Transport van opgeloste bestanddelen met een vloeistofstroom tengevolge van hydrostatische of osmotische drukverschillen geschiedt eveneens passief. Men kan zich echter wel voorstellen, dat dit transport in zekere mate selectief is, doordat, ten gevolge van de verschillende grootte der ionen, een filtratie door de mazen in de membraan plaats vindt.

Ook zijn er gevallen bekend, waarbij vloeistofbewegingen door levenloze membranen plaats vonden van een meer naar een minder geconcentreerde oplossing. Deze verschijnselen van 'anomale osmose' worden onder anderen door GROLLMAN en SOLLNER (1932) beschreven.

De beweging van water door membranen heeft, geheel afgezien van de oorzaak van die beweging, steeds invloed op de bestanddelen, die in het water opgelost zijn. De waterstroom versnelt namelijk de diffusie van opgeloste moleculen in de richting van de stroom en vertraagt de diffusie in de tegengestelde richting. Het meevoeren van opgeloste stoffen met de waterstroom wordt 'solvent drag' genoemd en zou invloed hebben op de resorptie van suikers (CRANE, 1960).

Uit het bovenstaande blijkt, dat zich bij transport door membranen verschijnselen kunnen voordoen, die op het eerste gezicht op actieve processen schijnen te wijzen, maar die toch slechts op passieve krachten berusten.

Het transport van in vet oplosbare bestanddelen door de celmembraan verloopt passief. De snelheid van permeëren is afhankelijk van de concentratie-gradiënt. Ook de verhouding van de hydrophobe en de hydrophiele groepen in het molecuul heeft invloed op de resorptiesnelheid: hydrophobe groepen verhogen de permeatiesnelheid en hydrophiele groepen hebben het tegengestelde effect (JACOBS, 1935).

1.3.2 Actief transport

Van actief transport is sprake, wanneer de verplaatsing van een bestanddeel door een membraan niet kan worden verklaard uit louter fysische krachten (USSING, 1949). De verplaatsing b.v. van een ion tegen een elektro-chemische gradiënt in is een actief proces. Voor actief transport is energie nodig om de elektro-chemische gradiënt te overwinnen. Deze energie moet worden ontleend aan de stofwisseling van de cel, door welks wand en celinhoud het transport plaats vindt. In de meeste dierlijke cellen hangt het actieve transport van kationen af van het oxydatieve metabolisme. Wanneer derhalve de zuurstofvoorziening wordt stopgezet of op een andere manier in dit metabolisme wordt ingegrepen, dan zal het actieve transport na korte tijd ophouden. Dit is onder andere het geval voor het transport door de kikkerhuid, door de darmwand en door de wanden van zoogdierspiercellen (USSING, 1960; GILMAN en KOELE, 1960). In andere weefsels en celtypen, zoals kikkerspieren en zoogdiererythrocyten, kan het actieve transport evenwel voortgang vinden bij afwezigheid van zuurstof. De benodigde energie wordt dan ontleend aan de glycolyse. Door uitputting van de glucosevoorraden, door afkoeling en ook door blootstellen aan remmers van de glycolyse, zoals natriumfluoride en monoïoodacetaat, wordt het actieve kationentransport door de wand der zoogdiererythrocyten tegengewerkt (MAIZELS, 1954). In cellen die afhankelijk zijn van het oxydatieve metabolisme is dinitrophenol (D.N.P.), dat de oxydatieve fosforylering blokkeert, een sterke remmer. Dit vergif heeft daarentegen weinig effect op het ionentransport bij zoogdiererythrocyten, die daarvoor immers afhankelijk zijn van de glycolyse.

Er zijn sterke aanwijzingen dat energierijke fosfaatverbindingen, vooral adenosinetrifosfaat (A.T.P.), een belangrijke rol spelen bij de energieoverdracht die nodig is voor dit actieve transport (POST et al. 1960; CZAKY, 1963). De eigenschap van energieverbruik alleen is echter niet altijd voldoende om het actieve van het passieve transport te onderscheiden. Want, hoewel de beweging van een ion in de richting van een elektrische gradiënt geen energie vereist, moet door de cel toch energie geleverd worden om de elektrische gradiënt te handhaven. Diffusie in overeenstemming met een elektrische gradiënt kan derhalve beschouwd worden als indirect toch afhankelijk te zijn van de een of andere energiebron (BERLINER, 1959).

Actief transport is in hoge mate selectief. Zo zijn de verschillen tussen Natrium- en K-ionen scheikundig gezien niet groot. Bij de permeatie maakt de celwand echter een belangrijk verschil tussen deze twee. Ook bij de resorptie van suikers blijkt deze specificiteit, zoals wij hiervoor reeds opmerkten. Glucose en galactose worden, ondanks hun grotere molecuulvolume, sneller opgenomen dan pentose. Bovendien bestaan er grote verschillen tussen de hexosen onderling wat hun resorptiesnelheid aangaat. Het actieve transport vraagt dus een bepaalde gestalte van het getransporteerde molecuul. Zo kan verplaatsing van een OH-groep in een suikermolecuul, dus verandering van de stand dezer groep in de ruimte, grote invloed hebben op het actieve transport. Zo ook worden de natuurlijke L-vormen der aminozuren veel sneller opgenomen dan de onnatuurlijke D-vormen.

Het lijkt zeer waarschijnlijk, dat er voor het actieve transport 'dragermoleculen' worden ingeschakeld, die een grote affiniteit voor de te resorberen stoffen hebben ('carrier transport'). Aan de celmembraan zou de te resorberen stof met de 'drager' een verbinding aangaan en vervolgens door de cel worden getransporteerd en aan de andere zijde weer losgelaten worden. De mogelijkheid van de drager om met het bestanddeel te reageren zou een grote mate van specificiteit bezitten. Het metabolisme zou dienen om de verbinding tussen de drager en de opgenomen stof te verbreken aan de zijde van de cel met de hogere concentratie aan de opgenomen stof, zodat deze stof niettemin voor het lichaam beschikbaar komt. Wanneer er specifieke dragermoleculen zuiver zouden kunnen worden afgescheiden, dan zou deze hypothese daarmee een steviger basis krijgen. Tot op heden is dat nog niet gelukt, al zijn er sterke aanwijzingen voor het bestaan van zo'n mechanisme verkregen (CZÁKY, 1963).

1.3.3 Gekatalyseerde diffusie

Het onderscheid tussen passief en actief transport is niet steeds duidelijk. Bij het onderzoek naar de opname van suikers door cellen, zoals erythrocyten, ascites-tumorcellen, levercellen en spiercellen, is door verschillende onderzoekers (CRANE, 1960) waargenomen, dat het transportmechanisme zowel kenmerken vertoonde van het passieve als van het actieve transport. Zo had er geen transport plaats tegen een concentratiegradiënt in; maar de snelheid van permeëren week sterk af van wat op grond van eenvoudige diffusie kon worden verwacht: bij lage gehalten was de snelheid naar verhouding groter dan bij hoge gehalten. Dit verschijnsel, namelijk dat de snelheid van een reactie relatief vermindert wanneer het gehalte van een substraat stijgt, is sinds de beschouwingen van MICHAELIS en MENTEN (1913) over de reactie tussen enzymen en substraat, een bekend fenomeen. Het zou het gevolg zijn van een tijdelijke verbinding van een substraat met een enzymesysteem dat verzadigd raakt.

Men veronderstelt nu, dat ook de suikers die niet actief geresorbeerd worden en ook wel andere in water oplosbare bestanddelen de epitheliumcel passeren door een verbinding aan te gaan met een bestanddeel in de membraan, die 'drager' wordt genoemd. Deze verbinding zou overeenkomst vertonen met de verbinding tussen enzyme en substraat en heeft mogelijk tot gevolg, dat polaire groepen worden gemaskeerd, die anders het in oplossing gaan van het bestanddeel in de vetlaag verhinderen. De beweging door de membraan zou ook hier tot stand komen door diffusie, maar nu vergemakkelijkt door een drager in de membraan. Het celmetabolisme behoeft hieraan geen energie toe te voegen, omdat de beweging door de cel in overeenstemming met de concentratiegradiënt verloopt. DANIELLI (1954) gaf hieraan de naam 'facilitated diffusion'. Daar deze wijze van transport overeenkomst vertoont met een gekatalyseerde enzymereactie kan men dit transport ook met de naam gekatalyseerde diffusie aanduiden (NETTER, 1959).

Wij zullen thans onze aandacht richten op de resorptie van het Ca en het Mg en wel in de eerste plaats op die van het Ca.

1.4 HET RESORPTIEMECHANISME VOOR HET CALCIUM

Bij in-vitro-proeven met overlevende stukjes duodenum van ratten en konijnen toonden SCHACHTER en ROSEN (1959) aan, dat het Ca door de darmwand van binnen naar buiten kan worden getransporteerd tegen een concentratiegradiënt in. Hiervoor werden bij dieren onder narcose gedeelten van de dunne darm uitgeprepareerd, gewassen met een fysiologische zoutoplossing en tot gesloten zakjes gemaakt, waarbij de serosa naar binnen werd gekeerd ('everted gut sac technique'; WILSON en WISEMAN, 1954). De zakjes werden gevuld met proefoplossingen, waarin het Ca-gehalte varieerde van 0,04 tot 4 meq/l en waarin tevens radioactief Ca^{45} was opgenomen. Vervolgens werden deze zakjes in proefoplossingen gehangen, waarvan de samenstelling gelijk was aan de oplossing in de zakjes. Het geheel werd in WARBURG-flessen geplaatst en gedurende 3 uren in een zuurstofatmosfeer op 37°C gehouden.

Aan het einde van deze incubatieperiode werden de oplossingen in en buiten de zakjes afzonderlijk geanalyseerd op de gehalten aan Ca^{45} en de verhoudingen van deze gehalten berekend: verhoudingen groter dan 1 duiden op een transport tegen een concentratiegradiënt in.

In een groot aantal proeven met zakjes van duodenum van ratten en konijnen op een laboratoriumrantsoen, werden tussen de gehalten aan Ca^{45} in de oplossingen aan de zijde van de mucosa en de serosa verhoudingen gevonden die varieerden van 1:3 tot 1:5. Het transportmechanisme bleek in deze proeven afhankelijk te zijn van het oxidatieve metabolisme: vervanging van zuurstof door stikstof, verlaging van de temperatuur tot 5°C of toevoeging van NaF, NaCN en D.N.P. aan de oplossingen had tot gevolg dat de verhoudingen tussen de Ca-gehalten van de oplossingen binnen en buiten niet veranderden.

In proeven waarbij de membraanpotentiaal werd gemeten is gebleken, dat het transport van Ca ook tegen de elektro-chemische gradiënt in plaats vond (SCHACHTER, 1963). De kant van de serosa was positief ten opzichte van de kant van de mucosa en de potentiaalverschillen, gemeten bij zakjes uit het duodenum van ratten varieerden van +1 tot +3 mV en van +6 tot +10 mV wanneer respectievelijk fructose (0,02m) of glucose (0,02m) als substraat aanwezig was.

Ook de invloed van verschillende stofwisselingsprodukten, waaronder aminozuren, vetzuren en koolhydraten, op het transport van Ca werd onderzocht. Alleen de koolhydraten glucose, fructose en maltose bleken het transport te bevorderen. Glucose en maltose gaven een verdubbeling van de hoeveelheid getransporteerd Ca^{45} te zien in vergelijking met het transport zonder deze suikers, terwijl fructose het transport nog sterker bevorderde.

Werden andere tweewaardige kationen aan de proefoplossingen toegevoegd, dan bleken deze soms met het Ca een competitie te kunnen aangaan. Mg- en Co-ionen verminderden het transport van Ca, terwijl Ba- en Sr-ionen geen effect hadden. Verder bleken stoffen die met Ca een complex vormen, zoals complexon (E.D.T.A.), glucuronzuur en citroenzuur, het transport te remmen.

Werden voor de boven beschreven proeven stukjes duodenum gebruikt van

ratten die gedurende 3 tot 5 weken een vitamine-D-arm rantsoen hadden gekregen en gedurende die tijd niet met daglicht in contact waren geweest, dan bleek het actieve Ca-transport ernstig gestoord te zijn (SCHACHTER en ROSEN, 1959; DOWDLE et al., 1960; SCHACHTER et al., 1961). Deze storing kon worden voorkomen door het verstrekken van vitamine D aan de dieren. Slechts 2 I.E. vitamine D per os en per rat bleken voldoende om het actieve transport van de darmwand bij deze in-vitro-proeven te herstellen. Tussen het tijdstip van het toedienen van het vitamine en het wegnemen van de darm moest een tijdspanne van ongeveer 48 uren liggen (SCHACHTER et al., 1961). De activiteit van het transportmechanisme herstelde niet door calciferol, opgelost in propyleenglycol, aan de proefoplossingen toe te voegen. Dit wijst op een indirect effect van vitamine D op het transportmechanisme.

SCHACHTER et al. (1961) waren van mening dat het vitamine D primair de actieve Ca-resorptie beïnvloedt door een stimulerende werking op het actieve transport. HARRISON en HARRISON (1960) toonden in proeven met ratten, waarbij proefoplossingen in afgebonden darmlussen werden gebracht, aan dat vitamine D in alle segmenten van de dunne darm werkzaam is, het duidelijkst echter in het duodenum en het aangrenzende jejunum. Deze onderzoekers meenden echter, dat de verhoging zou berusten op snellere diffusie van het Ca. Het vitamine D zou dus ook de passieve resorptie van Ca in de darm bevorderen.

Darmzakjes, gemaakt van het duodenum van jonge ratten, transporteerden het Ca beter dan zakjes van oudere dieren (SCHACHTER et al., 1960). Werden de darmzakjes gemaakt van het duodenum van dieren die in de laatste week van hun dracht waren, dan was het Ca-transport sneller dan wanneer stukjes darm van niet-drachtige volwassen dieren werden gebruikt. Wanneer aan de ratten een Ca-arm rantsoen was verstrekt gedurende één week voor het uitprepareren van de darm, dan werd het Ca in de overlevende stukjes darm sneller getransporteerd dan wanneer een Ca-rijk rantsoen was verstrekt (MALM, 1963). Men kan hieruit besluiten, dat de resorptie van het Ca blijkbaar aan de behoefte van het lichaam kan worden aangepast. Die aanpassing komt tot stand, enerzijds doordat het actieve transport in het duodenum versneld wordt, anderzijds doordat in een groter deel van de dunne darm een actief transportmechanisme gaat werken. Bij ratten die een volledig rantsoen kregen, werd actief Ca-transport enkel waargenomen in het proximale $\frac{1}{5}$ gedeelte van de dunne darm. Wanneer de proefdieren twee of meer weken een Ca-arm rantsoen met voldoende vitamine D ontvingen, dan kon in bijna de gehele darm actief Ca-transport worden aangetoond (KIMBERG et al., 1961). Vitamine D-deficiënte dieren vertoonden dat aanpassingsvermogen niet (DOWDLE et al., 1960).

Dat bepaalde gedeelten van de dunne darm bijzonder geschikt zijn voor het actieve Ca-transport in-vitro bleek ook uit andere proeven van SCHACHTER et al. (1960), wederom met de zakjesmethode. Bij de rat, het konijn, de cavia en de muis werd een zeer actief Ca-transport gemeten in het overlevende duodenum, terwijl het transport in zakjes gemaakt van naar achteren gelegen darmgedeelten snel verminderde. In zakjes, vervaardigd van het midden van het jejunum, had nog nauwelijks transport tegen een concentratiegradiënt in plaats. Bij de

hamster echter werd een intensief actief Ca-transport door de wand van het einde van de dunne darm vastgesteld, terwijl de duodenumwand slechts weinig actief was.

RASMUSSEN (1959) nam waar dat overlevende duodenumzakjes van normale ratten een groter concentratieverschil konden bewerkstelligen dan duodenumzakjes van ratten waarbij de schildklier en de bijschildkliertjes waren weggenomen. SCHACHTER et al. (1960) vonden bij dergelijke dieren in duodenumzakjes een vermindering van 30% bij het Ca-transport en een vermindering van 50 tot 80% na hypophysectomy. De vermindering trad drie of meer dagen na de operaties in. Verstrekken van het parathormoon aan ratten zonder schildklier en bijschildkliertjes gaf een gedeeltelijk herstel van het actieve transport te zien. Hoe de beïnvloeding van het transport door hormonen tot stand komt, is niet duidelijk.

Het overgrote deel van de gegevens over het actieve transport van Ca door de darmwand van laboratoriumdieren werd blijkens het voorgaande verkregen bij in-vitro-proeven. Door FINKELSTEIN en SCHACHTER (1962) werd een poging gedaan om de uitkomsten van de in-vitro-proeven te toetsen aan resorptieproeven met darmlussen van levende ratten. Bij proefratten werd gedurende een slechts vijf tot zeven minuten durende ethernarcose een darmlus afgebonden en gevuld met een isotonische oplossing, waarin Ca^{47} en CaCl_2 waren opgenomen, waarna de buikholte werd gesloten. Na verloop van tijd werden de ratten gedood, de lus werd weggenomen en de inhoud verzameld. Het transport van het Ca door de darmwand werd berekend uit de gehalten aan het stabiele en het radioactieve Ca in de gebruikte proefoplossingen. De uitkomsten van deze proeven hebben veel van de waarnemingen bevestigd, die bij in-vitro-proeven waren gedaan. WASSERMAN et al. (1961), alsmede D'A WEBLIN en HOLDSWORTH (1965), vonden dat ook bij kuikens een actief transportmechanisme voor Ca werkzaam is.

CRAMER en DUECK (1962) onderzochten de resorptie van het Ca en het Mg in Thiry-Vella-fistels van het jejunum en het ileum bij honden. Oplossingen van calciumlactaat werden bij lichaamstemperatuur met constante snelheid enige malen door de geïsoleerde darmlussen gepompt. Deze lussen waren ongeveer 120 cm lang. Na één uur pompen werden de oplossingen verzameld en de lussen nagewassen. Het verschil tussen de hoeveelheid Ca die in de lus gepompt werd en de hoeveelheid die na 1 uur werd teruggevonden, vormde een maatstaf voor de hoeveelheid Ca die geresorbeerd was. Bevatten de proefoplossingen geen Ca, dan werd een beweging van het Ca naar het darmlumen vastgesteld totdat het Ca-gehalte in het lumen 2 à 3 meq/l bedroeg. Verhoging van het Ca-gehalte in de proefoplossingen had een stijging van de resorptie ten gevolge. Deze stijging was aanvankelijk nagenoeg constant, maar verminderde bij hogere gehalten; bij gehalten hoger dan 25 meq Ca/l werd geen verdere stijging bij de resorptie van het Ca waargenomen. Het niet verder stijgen van de resorptie, niettegenstaande de gehalten aan Ca in de proefoplossingen werden verhoogd tot ver boven 25 meq/l, wijst op verzadiging van het transportmechanisme. Verder bleek, dat minder Ca geresorbeerd werd, wanneer Mg aan de proefoplossingen was toegevoegd. De competitie tussen Ca en Mg en de mogelijkheid van verzadiging van het

resorptiemechanisme wijzen er ook bij deze proeven op, dat de Ca-resorptie niet een eenvoudig diffusie-proces is, maar dat een 'drager-mechanisme' met een beperkte capaciteit hierbij een rol speelt (gekataliseerde diffusie).

De resorptie van het Ca en het Mg te zamen was in deze proeven van CRAMER en DUECK (1962) gelijk aan de resorptie van het Ca, wanneer dit element alleen in de proefoplossingen voorkwam. Dit wijst op een gemeenschappelijk resorptiemechanisme voor Ca en Mg. Het bestaan van een dergelijk gemeenschappelijk resorptiemechanisme bij ratten werd ook verondersteld door ALCOCK en MCINTYRE (1962) en door HENDRIX et al. (1963).

Wat de *herkauwers* betreft bleek in de eerder vermelde proeven van STORRY (1960) en SCOTT (1965a), dat de resorptie van het Ca uit geïsoleerde darmlussen van schapen gecorreleerd is met de gehalten aan Ca in de proefoplossingen die in het lumen werden gebracht. De betrekking was rechtlijnig tot gehalten van ongeveer 40 meq Ca/l (SCOTT, 1965a). Daarboven nam de resorptie nog maar weinig toe. Een competitieve werking van het Mg op de Ca-resorptie werd in deze proeven met een herkauwer niet waargenomen. Bij eigen proeven met schapen, waarbij Thiry-Vella-fistels waren aangelegd, vonden wij (CARE en VAN 'T KLOOSTER, 1965) dat de netto-resorptie van het Ca in de lussen, die uit het midden van de dunne darm waren genomen, ongeveer drie maal zo snel was wanneer het Mg-gehalte in de proefoplossingen 1,6 meq/l was, dan wanneer het gehalte 19,8 meq/l bedroeg. Daarbij was het gehalte aan Ca in de proefoplossingen steeds 22 meq/l. Er werd geen resorptie van Ca tegen de elektro-chemische gradiënt in waargenomen. Deze uitkomsten doen veronderstellen, dat het resorptiemechanisme van het Ca bij herkauwers, evenals bij honden, een gekataliseerd diffusie-proces is.

Naast een beweging van het Ca naar het bloed vindt tevens een beweging naar het darmlumen plaats. CRAMER (1963) pompte gedestilleerd water door Thiry-Vella-fistels, gemaakt uit het jejunum en het ileum van honden en vond, dat geringe hoeveelheden Ca naar het lumen werden uitgescheiden. Wanneer het Ca-gehalte in het bloedplasma door intraveneuse infusie tot 15 mg% werd verhoogd, dan werd geen stijging in de uitscheiding naar de darm waargenomen. Deze waarneming is in overeenstemming met de uitkomsten van andere proeven met honden, waarbij evenmin stijging in de faecale Ca-uitscheiding werd vastgesteld wanneer Ca intraveneus werd geïnjecteerd (NICOLAYSEN, 1953).

De beweging van het Ca naar het darmlumen is blijkbaar geen diffusie. Men zou dan immers een positief verband verwachten tussen het Ca-gehalte van het bloed en de hoeveelheid uitgescheiden naar de darm. CRAMER is daarom van mening, dat de secretie van het Ca met het darmsap de enige weg is waarlangs het naar het darmlumen gaat.

Samenvattend kan worden besloten dat het Ca zowel in-vivo als in-vitro actief kan worden geresorbeerd in het duodenum en in het begin van de dunne darm van kleine laboratoriumdieren (rat, konijn, cavia, muis) en van kuikens. Dit transport wordt bevorderd door enkele koolhydraten (glucose, fructose en maltose) en vitamine D, terwijl Mg-ionen en stoffen die met Ca een complex

vormen, het transport remmen. Andere factoren die op de actieve resorptie van het Ca invloed uitoefenen, zijn de leeftijd van het proefdier, de Ca-status en de Ca-behoefte van het lichaam. Verwijderen van de hypofyse en van de schildklier en bijschildkliertjes had bij ratten een vertraging van het actieve Ca-transport ten gevolge.

Naast actief transport had bij deze dieren ook passief transport van Ca plaats.

Bij honden werd geen Ca-resorptie tegen een concentratieverschil in waargenomen (CRAMER en DUECK, 1962). Omdat evenwel de snelheid van de Ca-resorptie niet evenredig aan de concentratie was en het chemisch nauw-verwante Mg de resorptie van Ca vertraagde, werd het resorptie-mechanisme bij deze dieren opgevat als zijnde een gekatalyseerd diffusie-proces.

Ook bij schapen werd geen Ca-resorptie tegen een concentratiegradiënt in waargenomen. Wel werden aanwijzingen verkregen dat het Ca-resorptiemechanisme ook bij deze dieren op gekatalyseerde diffusie berust.

1.5 HET RESORPTIEMECHANISME VAN HET MAGNESIUM

Het resorptiemechanisme van Mg is nog maar weinig onderzocht. Niettemin is bij verschillende diersoorten een competitie tussen de resorptie van het Mg en die van het Ca in de darm waargenomen (ALCOCK en MCINTYRE, 1962; CRAMER en DUECK, 1962). Wanneer in een proefrantsoen voor ratten geen Ca werd opgenomen, dan bleek de resorptie van Mg nl. groter te zijn dan wanneer het rantsoen een normale hoeveelheid Ca bevatte. De resorptie van het Ca bij ratten op een Mg-vrij rantsoen was ongeveer gelijk aan die van het Ca en Mg samen bij dieren die een gewoon proefrantsoen kregen (ALCOCK en MCINTYRE, 1960; HENDRIX en ARCHIBALD, 1963). Deze uitkomsten doen veronderstellen dat het Ca en het Mg de darmwand via een gemeenschappelijk transportmechanisme passeren.

SCHACHTER (1963) vond bij in-vitro-proeven met darmzakjes, dat het Ca-transport door de darmwand van ratten, konijnen en cavia's werd vertraagd wanneer Mg aan de proefoplossingen werd toegevoegd. Hij vond echter geen transport van Mg tegen een concentratiegradiënt in, terwijl dit bij het Ca wel het geval was, althans in het proximale gedeelte van de dunne darm. In verschillende proeven werd gevonden, dat het transport van het Mg in het ileum sneller verliep dan in het begin van de dunne darm. Het Ca daarentegen werd, zoals in paragraaf 1.3 is aangegeven, in het begin van de dunne darm sneller getransporteerd dan in het ileum. Wanneer er derhalve al een gemeenschappelijk transportmechanisme voor deze aardalkalimetalen bestaat, dan moet de werking ervan in de onderscheiden gedeelten van de darm verschillend zijn.

Ross (1962) onderzocht in vitro het transport van het Mg door de darmwand van ratten. De dunne darm werd in drie ongeveer gelijke delen verdeeld, uit de buikholte genomen en in een oplossing volgens KREBS en HENSELEIT (1932) gehangen. In deze oplossing waren, behalve verschillende zouten, ook 0,5% glucose en een spoor Mg^{28} opgenomen. De proeftechnieken die hij toepaste, waren die met darmzakjes volgens WILSON en WISEMAN (1954) en SMYTH en TAILOR

(1957) (zie aanhef 1.4). Uit deze proeven bleek dat het transport van het Mg naar de kant van de serosa steeg, wanneer het Mg-gehalte in de proefoplossingen verhoogd werd. De stijging was echter bij lage Mg-gehalten veel sterker dan bij hoge gehalten. Daaruit besloot hij dat de beweging van het Mg door de darmwand geen zuiver passief proces is. In andere proeven (ROSS en CARE, 1962) is vervolgens gebleken, dat natriumcyanaat, fluoracetaat en joodazijnzuur in vitro de opname van Mg^{28} door stukjes dunne darm van cavia's verminderen. Het vrijkomen van het Mg^{28} uit deze orgaanfragmenten werd door die vergiften bevorderd. Hieruit werd besloten, dat de intracellulaire ophoping van Mg bij ratten tenminste voor een deel afhankelijk is van het oxydatieve metabolisme van de cel.

Vermoedelijk komt het resorptiemechanisme bij herkauwers grotendeels met dat van de niet-herkauwers overeen. Zo werd door ons (CARE en VAN 'T KLOOSTER, 1965) met behulp van Thiry-Vella-fistels bij schapen gevonden, dat de netto-resorptie van het Mg niet evenredig is met de Mg-gehalten der proefoplossingen. Beneden 3 meq/l werd geen netto-resorptie waargenomen. Voorts steeg de netto-resorptie vrij sterk bij gehalten tussen 3 en circa 6 meq/l; daarna nam de stijging af. De resorptie van het Mg werd geringer, wanneer het Ca-gehalte in de proefoplossingen werd verhoogd. Een beweging van het Mg tegen de elektro-chemische gradiënt in werd niet vastgesteld. Ook deze uitkomsten doen vermoeden, dat het resorptiemechanisme van het Mg in de darm van schapen een gekatalyseerd diffusieproces is.

Op grond van een groot aantal proeven met kalveren kwam SMITH (1965) tot het besluit, dat het Mg bij deze dieren passief werd geresorbeerd.

Door het Mg in de proefoplossingen die door de Thiry-Vella-fistels werden gepompt, te merken met Mg^{28} konden wij (CARE en VAN 'T KLOOSTER, 1965) zowel de secretie van het Mg als de netto-resorptie er van bepalen. De hoeveelheid Mg die tijdens de proeven naar het lumen van de darmlus werd uitgescheiden, was steeds ongeveer gelijk aan de hoeveelheid die in dezelfde tijd met het darmsap werd gesecerneerd. Een diffusie van het Mg van het bloed naar de darm werd niet waargenomen.

Hoewel er derhalve nog maar weinig bekend is omtrent het resorptiemechanisme van Mg in de darm, kan toch wel worden gezegd dat het Mg niet actief geresorbeerd wordt. Verschillende proefuitkomsten wijzen in de richting van een gekatalyseerd diffusieproces, zowel bij kleine laboratoriumdieren als bij herkauwers.

1.6 DE TOESTAND VAN HET CALCIUM EN MAGNESIUM IN DE DARM VAN HERKAUWERS

Zoals in de paragrafen 1.1, 1.4 en 1.5 werd uiteengezet, hangt de resorptie van het Ca en wellicht ook die van het Mg af van de gehalten dezer elementen in het darmvocht. In de gemengde zoutoplossingen die in resorptieproeven werden gebruikt, waren de aardalkaliën nagenoeg geheel als ionen aanwezig. Om na te

gaan in hoeverre de verkregen inlichtingen van toepassing kunnen worden geacht op de normale darminhoud, dienen wij de gehalten aan calcium- en magnesium-ionen in de darminhoud te kennen. Hierover hebben wij in de literatuur echter geen gegevens gevonden. Wel hebben verschillende onderzoekers de gehalten aan Ca en Mg bepaald in ultrafiltraten, verkregen door chymus uit de verschillende delen van het maagdarmkanaal te persen door semi-permeabele membranen van cellofaanpapier of collodion. Gewoonlijk wordt aangenomen dat de aardalkaliën in die ultrafiltraten voor het overgrote deel in de ionvorm voorkomen. In dit proefschrift zullen proeven worden beschreven waaruit blijken zal, dat deze aanname de werkelijkheid inderdaad dicht benadert.

Naast een ultrafiltreerbare fractie van het Ca en het Mg komt in de darminhoud ook een zeer belangrijke niet-ultrafiltreerbare fractie voor. De verdeling van deze elementen over beide fracties is in sterke mate afhankelijk van de pH; maar ook andere factoren, zoals het voedsel, hebben daarop waarschijnlijk een belangrijke invloed.

Wij zullen in deze paragraaf eerst de uitkomsten van enkele in de literatuur beschreven proeven bespreken, die betrekking hebben op de gehalten aan ultrafiltreerbaar Ca en Mg in de darminhoud van herkauwers (1.6.1). Daarna zal de verdeling van deze elementen over de ultrafiltreerbare en de niet-ultrafiltreerbare fractie van de darminhoud worden besproken, waarbij in het bijzonder aandacht zal worden geschonken aan de pH en de invloed daarvan op de ultrafiltreerbaarheid van de aardalkaliën (1.6.2). De verdeling van het Ca en het Mg over de genoemde fracties in de voormagen (GARNER, 1949; GARTON, 1951) werd eerder reeds besproken door VAN WEERDEN (1959). Daarop zal hier niet worden ingegaan.

1.6.1 *De gehalten aan calcium en aan magnesium in het ultrafiltraat van de darminhoud*

Naar de toestand van het Ca en het Mg in de maag- en darminhoud van schapen werd een onderzoek ingesteld door STORRY (1960). Door een intraveneuze injectie van Na-pentobarbital werden schapen gedood. Drie dieren hadden een rantsoen gehad, dat bestond uit hooi en krachtvoer, twee dieren een rantsoen van uitsluitend gras. Na openen van de buikholte werden de volgende gedeelten van het maagdarmkanaal afgebonden: pens, boekmaag, lebmaag, dunne darm, blinde darm en dikke darm. De dunne darm werd nog weer in vier, ongeveer gelijke delen verdeeld. Van de verse inhoud uit deze verschillende gedeelten van het maagdarmkanaal werden ultrafiltraten gemaakt door de chymus te persen door collodionmembranen bij een druk van 200 mm Hg. Voor eventuele 'membraanfouten' (Donnan-evenwichten en adsorptie) werden geen correcties aangebracht. Van de boekmaag en de dikke darm werden de monsters met water verdund, waarna de ultrafiltraten werden gemaakt. In alle ultrafiltraten werden de gehalten aan Ca en Mg bepaald.

Behalve van in narcose gedode dieren werden ook enkele monsters lebmaaginhoud en darminhoud van fistelschapen onderzocht.

In de lebmaag van de gedode dieren varieerden de gehalten aan ultrafiltreer-

baar calcium van 11,2 tot 20,0 meq/l (STORRY, 1961a). De gehalten van het Ca in de ultrafiltraten van de inhoud uit de verschillende gedeelten van de dunne darm waren doorgaans veel lager en sterk wisselend. Hier werden waarden gevonden van 1,0 tot 10,5 meq/l. In de dunne darm was meer dan de helft van de gehalten aan ultrafiltreerbaar Ca lager dan die in het bloedplasma (2 à 3 meq/l). In de blinde darm werden veel hogere gehalten gevonden, hetgeen zeer waarschijnlijk het gevolg was van de daling van de pH en de resorptie van water in dit orgaan. In de dikke darm waren de gehalten aan ultrafiltreerbaar Ca eveneens hoog. De darminhoud werd echter vóór de bepaling verdund, waardoor Ca in oplossing kan zijn gegaan.

Wat het magnesium betreft werden in de lebmaag en in de verschillende gedeelten van de dunne darm ongeveer gelijke gehalten gevonden. Deze gehalten varieerden van 3,6 tot 7,2 meq/l in de lebmaag en van 2,6 tot 9,7 in de dunne darm. Steeds waren de ultrafiltreerbare gehalten in de darm hoger dan die in het bloedplasma (ca. 1,2 meq/l). In de blinde darm en in de dikke darm waren de gehalten aan Mg in de ultrafiltraten weer hoger dan die in de dunne darm.

Wij zelf hebben in een proef met een schaap, waarbij vier fistels op verschillende plaatsen in de dunne darm waren geplaatst, de gehalten aan Ca en Mg van de darminhoud in vivo bepaald (VAN 'T KLOOSTER, 1964). Zakjes gemaakt van cellofaan-dialyseslang ('VISKING', $\frac{9}{32}$) en gevuld met 1 ml van een 0,01m oplossing van polyethyleenglycol (4000), werden via de fistels in de darm gehangen, ter plaatse gefixeerd en na het intreden van evenwicht (na 8 uren) daaruit verzameld. De inhoud der zakjes werd vervolgens geanalyseerd op de gehalten aan de verschillende kationen. Deze methode is geheel vergelijkbaar met de compensatie-dialyse (RONA en TAKAHASHI, 1913). Men is het er vrijwel over eens, dat ultrafiltratie en compensatie-dialyse dezelfde uitkomsten geven (SCHMIDT en GREENBERG, 1935).

Op een *hooirantsoen* waren de gehalten aan Ca in de dialysaten van de inhoud uit de eerste helft van de dunne darm hoog, nl. 21 à 22 meq/l en in de tweede helft van de dunne darm belangrijk lager, nl. 11 meq/l. De gehalten aan Mg in de dialysaten op het hooirantsoen waren 5 à 6 meq/l met een betrekkelijk gering verschil tussen de opeenvolgende delen van de dunne darm. Werd een rantsoen van uitsluitend *gras* gevoerd, dat aanzienlijk minder Ca bevatte dan het hooirantsoen, dan waren de Ca-gehalten in de dialysaten aanmerkelijk lager dan op het hooirantsoen. Het verschil was het grootst in de tweede helft van de dunne darm. Op *gras* waren de Ca-gehalten slechts 4,5 meq/l. De hoeveelheden Mg die met deze beide rantsoenen werden verstrekt, waren nagenoeg gelijk. De gehalten aan Mg in de dialysaten van de darminhoud waren eveneens ongeveer gelijk; maar toch werden, evenals bij het Ca, in de tweede helft van de dunne darm op *gras* lagere gehalten gevonden dan op het hooirantsoen.

Wat de gehalten aan ultrafiltreerbaar Ca en Mg in de darminhoud van *koeien* betreft, is het onderzoek van VAN WEERDEN (1959) voor ons van veel belang. Hij bemonsterde de inhoud van verschillende gedeelten van het darmkanaal van

koeien, die op het abattoir volgens de geldende regels waren geslacht. Ongeveer een uur na de dood werd de dunne darm verdeeld in drie gelijke delen en de inhoud uit het midden van ieder van deze gedeelten verzameld. Verder werden nog monsters genomen van de digesta uit de lebmaag, de blinde darm en uit het begin, het midden en het eind van de dikke darm. Van deze monsters werden ultrafiltraten bereid met een membraanpers. Ook van de mest van koeien werden ultrafiltraten gemaakt. Er werden zodanige maatregelen getroffen, dat het optreden van membraanfouten tot een minimum beperkt bleef.

Tegen het gebruik van slachthuismateriaal zijn bezwaren aan te voeren. Er kunnen grote veranderingen in de darminhoud optreden tijdens de doodstrijd en gedurende ongeveer één uur daarna. In deze tijd zal de werking van allerlei enzymen in de chymus nog doorgaan en in het eind van de dunne darm, de blinde darm en de dikke darm zal de activiteit der micro-organismen nog voortgang vinden, zonder dat afvoer van de gevormde produkten naar het bloed plaats zal hebben. Daardoor kan de pH van de darminhoud veranderen, hetgeen op de gehalten van het opgeloste Ca en Mg invloed kan hebben. Ook gaat de darmperistaltiek nog geruime tijd door, waardoor de chymus in de darm van plaats verandert. Bovendien toonden BOYNE et al. (1956) en BADAWY et al. (1957) aan dat bij schapen, welke op de gewone, in het slachthuis gebruikelijke methode waren gedood, het darmepithelium sterk veranderd was en delen ervan in het darmlumen afgestoten waren. Tevens werd opgemerkt, dat inhoud van de Brunnerse klieren was uitgedreven. De afschilfering van het darmepithelium was het sterkst in het eerste gedeelte van de dunne darm. Of de histologische veranderingen van de darmwand gepaard gingen met wijzigingen in de chemische samenstelling van de darminhoud werd niet vastgesteld. Het is mogelijk, dat de gehalten aan Ca en Mg in de ultrafiltraten van de chymus, vooral in die uit het eerste gedeelte van de dunne darm, min of meer afwijken van de gehalten bij normaal functionerende ingewanden.

VAN WEERDEN vond in de ultrafiltraten van de lebmaaginhoud der slachtkoeien Ca-gehalten van 10 à 25 meq Ca/l. De Mg-gehalten waren steeds lager dan 10 meq/l. In het begin en in het midden van de dunne darm was het Ca-gehalte lager dan in de lebmaag, namelijk ongeveer 6 meq/l. Het Mg-gehalte bleef hier op hetzelfde niveau als in de lebmaag en had ongeveer dezelfde waarde als het Ca-gehalte. In het einde van de dunne darm toonden beide gehalten een tendens tot stijgen en in de blinde darm bereikten zowel het Ca- als het Mg-gehalte waarden van ongeveer 10 tot 30 meq/l. In de dikke darm bleven deze gehalten ongeveer op deze hoogte. In de mest waren de gehalten over het algemeen weer wat hoger.

In de lebmaag waren de gehalten aan ultrafiltreerbaar Ca dus veel hoger dan die in het bloedplasma (2 à 3 meq/l); in de dunne darm waren zij ongeveer twee maal zo hoog en in de blinde darm, de dikke darm en bij de mest was het gehalte over het algemeen aanzienlijk hoger dan dat in het bloedplasma. Wat betreft het gehalte aan ultrafiltreerbaar Mg, dit lag in lebmaag en dunne darm over het algemeen boven dat van het bloedplasma (ca. 1,2 meq/l), terwijl in de dunne

darm, de dikke darm en bij de mest de gehalten aan ultrafilterbaar Mg zelfs aanzienlijk hoger waren dan de gehalten in het bloedplasma.

Vergelijken wij deze gehalten met de hiervoor vermelde gehalten aan ultrafilterbaar en dialyseerbaar Ca en Mg in de darm van schapen, dan valt op dat de Ca-gehalten in de dunne darm van koeien in de proeven van VAN WEERDEN hoger waren dan die in de dunne darm van in narcose gedode schapen (STORRY, 1960) en lager dan die in de darm van een normaal schaap (VAN 'T KLOOSTER, 1964). Deze verschillen zijn waarschijnlijk voor een belangrijk deel toe te schrijven aan verschillen in de hoeveelheden van het Ca in de rantsoenen. Mogelijk ook hebben de gebruikte methoden er toe bijgedragen. Zo bereidde STORRY de ultrafiltraten door 50 ml darmvocht door collodion te persen onder een druk van 200 mm Hg. Alleen de eerste 5 ml filtraat werd opgevangen en onderzocht. Wanneer daarbij adsorptie van mineralen aan de collodionmembraan is opgetreden of water door de membraan werd afgegeven, dan zullen daardoor de gehalten van de mineralen zijn verlaagd. Tijdens het slachten van de koeien in de proeven van VAN WEERDEN (1959) heeft waarschijnlijk afschilfering van het darmepithelium plaats gehad, terwijl bovendien meer secreet van de Brunnerse klieren naar het darmlumen zal zijn uitgescheiden (BADAWY et al., 1957). Daar de gehalten aan Ca in de cellen vermoedelijk laag zijn en ook het secreet van de Brunnerse klieren betrekkelijk arm aan Ca is (STORRY, 1961), zou door de bovengenoemde postmortale veranderingen het Ca-gehalte in de darm verminderd kunnen zijn. De gehalten aan Mg in de darmwandcellen zijn daarentegen hoger dan gewoonlijk in de darminhoud worden gevonden (MEYER, 1963), zodat naast enige vermindering van de gehalten aan Ca een verhoging van de gehalten aan Mg plaats kan hebben gehad.

Bij de door VAN WEERDEN (1959) gevonden gehalten aan Ca en aan Mg zou voor de resorptie van deze elementen vrijwel nooit een concentratiegradiënt behoeven te worden overwonnen. Of de resorptie der aardalkaliën passief kan verlopen, hangt echter niet alleen af van de gehalten, maar ook van het *elektrische potentiaalverschil* aan weerszijden van de darmwand. Door DOBSON en PHILLIPSON (1954, 1958), alsmede door DOBSON (1955) werd aangetoond, dat bij schapen een elektrisch potentiaalverschil bestaat tussen de pensinhoud en het bloed. Het bloed was positief ten opzichte van de pensinhoud en de grootte van het verschil bedroeg + 30 tot + 40 mV. Sindsdien is bij herhaling gebleken, dat ook tussen de inhoud van de darm en het bloed van schapen een gelijk gericht potentiaalverschil bestaat, waarvan de grootte door SCOTT (1965b) werd bepaald op + 10 tot + 20 mV. Verder werd nog gevonden, dat de grootte van het potentiaalverschil afhing van de gehalten aan Na en K in de pens en in de darm: hoge Na-gehalten en lage K-gehalten gingen samen met kleine potentiaalverschillen, terwijl bij lage Na-gehalten en hoge K-gehalten juist grote potentiaalverschillen werden gevonden (SCOTT 1965b).

Stellen wij het potentiaalverschil tussen darminhoud en het bloed van koeien in de eerste helft van de dunne darm op + 15 mV en de gehalten aan het in de ionvorm verkerende Ca en Mg in het bloed resp. op 2,5 meq/l (BOOGAARTS,

1954) en 1,2 meq/l (WALSER, 1960), dan moeten de gehalten aan Ca^{++} en Mg^{++} in de darminhoud volgens de wet van NERNST (zie USSING, 1949) resp. tot ongeveer 8 en 4 meq/l stijgen alvorens passief transport naar het bloed kan optreden. Zoals wij hiervoor zagen, waren de gehalten aan ultrafilterbaar Mg in de dunne darm zowel bij koeien als bij schapen in verreweg de meeste gevallen hoger dan ongeveer 4 meq/l; de gehalten aan Ca echter waren dikwijls lager dan voor het passief verlopen van het transport nodig is. Derhalve, hoewel een concentratiegradiënt welhaast nimmer de resorptie van het Ca en het Mg zou tegenwerken, lijkt het waarschijnlijk, dat de elektro-chemische gradiënt in de darm van herkauwers het passieve transport van Ca dikwijls kan verhinderen. Het zal duidelijk zijn, dat deze beschouwing alleen geldt voor de in de ionvorm verkerende tweewaardige metalen. Voor de resorptie van gebonden Ca en Mg behoeft uiteraard geen elektro-chemische gradiënt te worden overwonnen.

Samenvattend kan worden gezegd, dat de gehalten aan ultrafilterbaar Ca en Mg in de inhoud uit de verschillende gedeelten van de darm sterk variëren. In de hier besproken proeven werd gevonden, dat het gehalte aan ultrafilterbaar Ca in de dunne darm van herkauwers schommelde tussen 1,0 en 23 meq/l. In de blinde darm, de dikke darm en de mest waren die gehalten gewoonlijk aanzienlijk hoger dan in de dunne darm. De ultrafilterbare Mg-gehalten schommelden minder sterk dan de Ca-gehalten, namelijk van 2,6 tot 9,7 meq/l in de dunne darm. In de blinde darm, de dikke darm en in de mest stegen de Mg-gehalten tot ongeveer 30 meq/l ultrafiltraat.

De gehalten aan ultrafilterbaar Ca waren meermalen lager dan voor het passief verlopen van de resorptie nodig is; de Mg-gehalten daarentegen waren daarvoor slechts zelden te laag.

1.6.2 *De verdeling van het calcium en het magnesium over de ultrafilterbare en de niet-ultrafilterbare fractie van de darminhoud van herkauwers en de pH van de darminhoud*

Door in de hiervoor vermelde proeven met in narcose gedode schapen (1.6.1) naast de gehalten aan Ca en Mg in de ultrafiltraten ook deze gehalten in de verse darminhoud te bepalen, kon STORRY (1960) de verdeling van deze elementen over de ultrafilterbare en de niet-ultrafilterbare fractie van de inhoud uit de verschillende gedeelten van het maagdarmkanaal berekenen.

In de pens en in de boekmaag van deze schapen was van het Ca nog 70 tot 90% niet-ultrafilterbaar en van het Mg nog ongeveer 50%. Het maagsap bleek van groot belang te zijn voor het in ultrafilterbare vorm overgaan van beide elementen, echter vooral van het Ca. In de lebmaag was 10 tot 30% van het Ca en 0 tot 20% van het Mg niet-ultrafilterbaar. In de lebmaaginhoud van fistelschapen, waarvan de pH gewoonlijk tussen 2 en 3 lag, bleek al het Ca en Mg ultrafilterbaar te zijn. Dit toont aan, dat het Ca en het Mg uit de voedermiddelen nagenoeg volledig, zo niet geheel in ultrafilterbare vorm komen, vóórdat de digesta de dunne darm hebben bereikt. Deze uitkomsten kwamen geheel overeen met die van de proeven van GARNER (1949) en GARTON (1951).

In het proximale vierde gedeelte van de dunne darm was 50 tot 85 % van het Ca en 20 tot 30 % van het Mg niet-ultrafiltreerbaar. In de andere gedeelten van de dunne darm en in de blinde en dikke darm was dit ongeveer 80 % van het Ca, waarbij het percentage voor het Mg sterk schommelde. Het percentage ultrafiltreerbaar Ca bleek in deze proeven afhankelijk te zijn van de pH van de chymus; lage pH-waarden gingen samen met hoge gehalten aan ultrafiltreerbaar Ca. Voor het Mg was deze betrekking minder duidelijk en zij bleek zelfs geheel afwezig in de darminhoud van de schapen die het grasrantsoen hadden gekregen. Het aantal dieren per proefgroep was echter te klein om tot een wezenlijk verschil tussen de rantsoenen te kunnen besluiten. Wij zullen thans nader ingaan op de zuurtegraad van de maagdarminhoud.

De pH-waarden van de lebmaaginhoud waren bij STORRY's slachtschapen steeds hoger dan die bij de schapen met lebmaagfistels. Dit werd toegeschreven aan het feit, dat van de geslachte dieren de gehele lebmaaginhoud werd gemengd vóórdat er monsters werden genomen. Bij de fisteldieren echter werden de monsters genomen uit het pylorusgedeelte. Deze monsters zullen rijker aan maagsap zijn geweest dan de mengmonsters. In de dunne darm werd een geleidelijke stijging van de pH waargenomen van ongeveer 5,0 in het eerste vierde gedeelte tot ongeveer 7,5 in het laatste vierde gedeelte. In de blinde darm was de pH weer iets lager, nl. 6,5 tot 7,0, terwijl in het colon weer een geringe stijging werd waargenomen. Door VAN WEERDEN (1959) werd een ongeveer gelijk verloop van de pH in de verschillende gedeelten van de darm van slachtkoeien vastgesteld.

De stijging van de pH van de chymus in de dunne darm is voornamelijk het gevolg van de secretie van darmsap en mogelijk ook van de resorptie van waterstof-ionen en niet-geïoniseerde organische zuren. Gal en pancreassap verhogen de pH van de chymus, die uit de lebmaag is gevloeid; maar het bufferende vermogen van deze secreten is beperkt. Dit blijkt uit de lage pH van de chymus uit het duodenum van schapen met fistels in het eind van het duodenum. MASSON en PHILLIPSON (1952) vonden nl. waarden van 2,3 tot 4,7, terwijl HARRISON en HILL (1962) waarden vermeldden van 3,2 tot 4,4. In de blinde darm moet de geringe daling van de pH zeer waarschijnlijk worden toegeschreven aan de productie van vluchtige vetzuren door bacteriën. In de dikke darm heeft resorptie van deze vetzuren plaats (VAN WEERDEN, 1959), hetgeen waarschijnlijk de stijging van de pH daar ter plaatse veroorzaakt.

Zoals gezegd bleken in de proeven van STORRY de schommelingen in de percentages ultrafiltreerbaar Ca met de pH van de chymus samen te hangen. STORRY (1960) onderzocht ook de invloed van vermindering van de zuurtegraad van verse lebmaaginhoud van schapen op de gehalten aan ultrafiltreerbaar Ca, Mg, anorganisch fosfaat en hogere vetzuren. Hij nam een geleidelijk toenemende daling waar van de gehalten aan ultrafiltreerbaar Ca en Mg, zowel wanneer de pH van de digesta met NaOH als met Na_2CO_3 trapsgewijze werd verhoogd tot ongeveer 7,0. De gehalten aan anorganisch fosfaat en aan vrije vetzuren daarentegen bleven onveranderd. Geheel in tegenstelling met wat op theoretische overwe-

gingen werd verwacht, trad in deze in-vitro-proeven derhalve geen precipitatie op van Ca en van Mg in de vorm van fosfaten of zepen. Een precipitatie van anorganisch fosfaat tegelijk met Ca en Mg had wél plaats wanneer NaOH aan ultrafiltraten of heldere centrifugaten van lebmaaginhoud werd toegevoegd. In de totale inhoud van de lebmaag moest daarom het voorkomen van stoffen worden aangenomen, welke het Ca en Mg binden bij waarden van de pH waarbij fosfaten en zepen nog niet precipiteren (pH 6,5). STORRY toonde aan, dat niet verteerde voedseldeeltjes voor deze binding van het Ca en het Mg verantwoordelijk waren. De hoeveelheden van het Ca en het Mg, die bij een pH lager dan 6 gebonden werden, waren positief gecorreleerd met de hoeveelheid sediment van de lebmaaginhoud. Bij verzadiging van het sediment met Ca of met Mg bleek, dat het vermogen om Ca te binden groter was dan het vermogen om Mg te binden. Verder werd nog vastgesteld, dat verdunnen van de lebmaaginhoud ten gevolge had, dat gebonden Ca en Mg in ultrafiltreerbare vorm overgingen. Dit laatste was vooral duidelijk wanneer de pH van de lebmaaginhoud vooraf op 6 à 8 was gebracht. Daaruit blijkt, dat de niet en wel ultrafiltreerbare vormen van het Ca en het Mg met elkaar in dynamisch evenwicht waren.

Een tweede onderzoek dat voor het onderhavige punt nieuw licht bracht is dat van SMITH (1963). Hij onderzocht de toestand van Ca, Mg en anorganisch fosfaat in de inhoud van de dunne darm van kalveren, die voorzien waren van darmfistels. Monsters van de inhoud van de lebmaag en van het einde van het ileum werden in vitro met verschillende Ca- en Mg-oplossingen in evenwicht gebracht bij verschillende waarden van de pH, maar bij gelijke verdunning, temperatuur en ionen-sterkte der oplossingen. Deze proeven werden gedaan met chymus van dieren waaraan een glucose-Mg-chloride-oplossing was verstrekt en ook van dieren die de volgende rantsoenen hadden gebruikt: melk, hooi plus krachtvoer en voorjaarsgras. Beneden pH-waarden van 6 à 6,5 was het anorganische fosfaat bijna geheel ultrafiltreerbaar; maar wanneer de pH steeg tot waarden boven 6,5 en er voldoende Ca aanwezig was, dan precipiteerde het fosfaat wél. Het Ca was bij een pH lager dan 3 nagenoeg volledig ultrafiltreerbaar; maar bij pH = 5,5 trad een aanzienlijke precipitatie op. Deze binding van het Ca trad echter niet op in de chymus van kalveren, die de vloeibare rantsoenen hadden gekregen. Ook het magnesium was bij een pH van 3 nagenoeg volledig ultrafiltreerbaar. In de lebmaaginhoud werd bij alle rantsoenen en in de ileuminhoud bij de vloeibare rantsoenen weinig precipitatie van Mg waargenomen beneden een pH van 6 à 6,5. In de ileuminhoud van kalveren die het voeder met ruwe celstof hadden gekregen, trad echter reeds een aanzienlijke binding op bij pH = 5,5, evenals dat het geval was met het Ca.

De proeven van SMITH (1963) toonden derhalve aan, dat bij een pH van 5,5 en hoger een aanzienlijk gedeelte van het Ca en het Mg gebonden werd door bestanddelen in de chymus van kalveren, die een ruwe-celstof-rijk rantsoen hadden ontvangen. Het anorganische fosfaat was bij waarden van de pH lager dan 6,5 nog nagenoeg volledig ultrafiltreerbaar, zodat het Ca en het Mg niet als fosfaten neergeslagen konden zijn. Dit was geheel in overeenstemming met de zoëven vermelde bevindingen van STORRY (1960), nl. dat het Ca en Mg in de chymus bij

voorkeur gebonden werden aan niet verteerde voedseldeeltjes. Tevens bleek, dat wanneer de pH van de chymus steeg tot boven 6,5, ook fosfaten precipiteerden.

Op grond van deze proeven verdeelt SMITH (1965) het niet-ultrafiltreerbare Ca en Mg in de darminhoud dan ook in een fractie die aan fosfaat is gebonden en in een fractie die door andere bestanddelen van ruwe-celstof-rijke voedingsmiddelen wordt vastgehouden. In de normale ileuminhoud van kalveren die een hooi- of grasrantsoen kregen, zou ongeveer de helft van het Ca en 30 tot 45% van het Mg in de laatstgenoemde fractie voorkomen. Hoeveel van het Ca en het Mg gebonden werd door fosfaat bleek afhankelijk te zijn van het fosfaatgehalte van de ileuminhoud. Bij hoge fosfaatgehalten bleek tot 93% van het Ca en 74% van het Mg niet-ultrafiltreerbaar.

Deze in-vitro-proeven hebben de opvatting, dat het Ca en het Mg in het begin van de dunne darm reeds zouden neerslaan als Ca-fosfaat en Mg-ammoniumfosfaat, ernstig aangetast. Tevens toonden zij aan, dat precipitatie van Ca- en Mg-zepen in dit darmgedeelte onwaarschijnlijk is. Vermindering van de zuurtegraad der digesta in het begin van de dunne darm zal zeer waarschijnlijk ook in vivo ten gevolge hebben, dat het vrije Ca en Mg gebonden worden aan vezeldeeltjes in de chymus. In de tweede helft van de dunne darm, waar de pH hoger dan 6,5 is, heeft mogelijk precipitatie van Ca- en Mg-fosfaten en -zepen plaats.

Vatten wij deze proefuitkomsten in het kort samen, dan kan worden gezegd, dat het Ca en het Mg in het begin van de dunne darm overwegend ultrafiltreerbaar waren. Verderop in de darm namen de ultrafiltreerbare percentages geleidelijk af. De vermindering van de ultrafiltreerbaarheid bleek samen te gaan met een stijging van de pH in de chymus.

In lebmaaginhoud van schapen en in ileuminhoud van kalveren die op een hooi- of grasrantsoen stonden, bleken het Ca en het Mg in vitro te precipiteren bij waarden van de pH (5 à 6), waarbij geen fosfaten en zepen van deze aardalkaliën neerslaan. Bij pH = 6,5 en hoger ontstonden wel Ca- en Mg-fosfaten. Bij waarden van de pH lager dan 6 worden Ca en Mg hoogstwaarschijnlijk gebonden door onverteerde vezeldeeltjes van de ruwe celstof.

Afgezien van het onderzoek van VAN WEERDEN (1959) is naar de toestand van de mineralen in de darminhoud van *koeien* nog nauwelijks onderzoek verricht. VAN WEERDEN bepaalde zich tot het onderzoek van de gehalten aan ultrafiltreerbare bestanddelen in het darmvocht, vooral in verband met de osmotische waarde van dit vocht; de gehalten in de darminhoud van levende dieren werden echter niet bepaald. Wij hebben een onderzoek ingesteld naar de verschillende vormen, waarin het Ca en het Mg in de darminhoud van *koeien* voorkomen. Hierover zal in de hoofdstukken 2 en 3 verslag worden uitgebracht.

2. METHODEN

In de mest en de darminhoud van herkauwers komen het Ca en het Mg zowel in opgeloste als in onopgeloste vorm voor. In dit onderzoek zal worden aangetoond, dat ook het Na en het K niet geheel opgelost in mest en darminhoud aanwezig zijn.

In verband met de resorptie van het Ca en het Mg gaat onze belangstelling vooral uit naar de verdeling van die mineralen over de opgeloste en de onopgeloste fractie en naar de toestand van genoemde bestanddelen in de opgeloste fractie. Om echter georiënteerd te raken omtrent de factoren die de oplosbaarheid in mest en darminhoud bepalen, is voor Ca en Mg ook onderzoek verricht naar de bindingstoestand in de onopgeloste fractie.

Terwijl het opgeloste Na en K zeer waarschijnlijk praktisch geheel in ionvorm verkeren, is van het opgeloste Ca en Mg een deel als ongedissocieerd zout (fosfaat, carbonaat, acetaat) of als complex gebonden mineraal (b.v. citraat) aanwezig.

In de onopgeloste fractie van de mest en de chymus bevindt zich het deel van de mineralen, dat niet is vrij gekomen uit het voornamelijk plantaardige voedsel tijdens de passage van het maagdarmkanaal. Verder komen daarin voor het Ca en het Mg, die na eerst in oplossing te zijn gekomen, later weer geprecipiteerd zijn. Ook kunnen laatstgenoemde bestanddelen geadsorbeerd zijn aan de niet verteerde resten uit het rantsoen, zoals door STORRY (1961b) werd aangetoond.

In dit hoofdstuk zal eerst de scheiding tussen de opgeloste en de onopgeloste fractie in mest en darminhoud van koeien door ultrafiltratie worden besproken. Daarna zal worden aangegeven hoe wij de activiteit van het opgeloste Ca en Mg in mest en darminhoud hebben bepaald. Tenslotte zal worden vermeld welke analytisch-chemische en fysische methoden bij dit onderzoek toegepast zijn.

2.1 DE SCHEIDING VAN DE OPGELOSE EN DE ONOPGELOSE FRACTIE

De verschillende methoden die toegepast zijn om de opgeloste en de onopgeloste bestanddelen in chymus en mest te scheiden, zijn door VAN WEERDEN (1959) besproken. Voor de scheiding van die fracties werd door hem gebruik gemaakt van een membraanpers. Hierbij worden mest en darminhoud onder stikstofdruk (8 atm) door een cellofaanmembraan uitgeperst. Als membraan werd het gewone huishoudcellofaan gebruikt, terwijl het heldere ultraf filtraat werd opgevangen in een erlenmeyer, die in ijs was geplaatst. Deze ultrafiltratietechniek is ook door ons toegepast.

VAN WEERDEN (1959) vond, dat de eerste ml van het ultraf filtraat een afwijkende samenstelling hadden. Dit werd toegeschreven aan het opnemen van water en het afgeven van glycerine door de membraan. Wij konden vaststellen, dat de gehalten aan Ca en Mg in de eerste 20 ml ultraf filtraat lager waren dan in de volgende hoeveelheden van 20 ml. Mogelijk is dit het gevolg van adsorptie van

de aardalkalimetalen aan het cellofaanpapier. Na de eerste 20 ml ondergingen de gehalten aan Ca en Mg geen veranderingen meer. Daarom hebben wij steeds de eerste 20 à 25 ml ultrafiltraat weggeworpen.

Door aanzuren van het ultrafiltraat van mest en darminhoud met trichloorazijnzuur werd een neerslag verkregen (VAN WEERDEN, 1959) dat na drogen en verassen geen residu gaf. Verondersteld werd dat het hier een precipitatie van eiwitten betrof, waaruit moest volgen dat de gebruikte cellofaanmembraan niet geheel ondoorlaatbaar was voor eiwitten. Uit 100 ml ultrafiltraat van mest verkregen wij met trichloorazijnzuur 20% een neerslag, dat na drogen 62 mg woog. Dit neerslag is in een microdestructiekolf verast volgen KJELDAHL. Na toevoegen van loog werd uit deze 62 mg precipitaat 1,27 mg N (als NH_3) verkregen. Wanneer deze N geheel van eiwit uit het precipitaat afkomstig was, dan was ca. 12,8% daarvan eiwit. Later zijn nog enkele precipitaten op dezelfde wijze behandeld. Gevonden werd, dat 10–14% van het verkregen neerslag als ruw eiwit kon worden opgevat.

De aanwezigheid van N in het precipitaat, verkregen door zuurtoevoeging, is echter nog geen bewijs voor de aanwezigheid van echte eiwitten.

Tijdens het aanzuren werd de kleur van het ultrafiltraat veel lichter, hetgeen zou kunnen wijzen op een precipitatie van kleurstoffen. Voorzover ons bekend zijn de kleurstoffen in de mest van koeien nog niet uitvoerig onderzocht, maar het is zeer waarschijnlijk, dat het stercobiline, dat per molecule 4 N-atomen bevat, een van de belangrijkste is. Dit stercobiline ontstaat in de darm uit de galkleurstoffen door de reducerende werking van bacteriële enzymen. Het lijkt mogelijk, dat de N in het zuur-precipitaat van mestultrafiltraat, afkomstig is van die kleurstoffen waarin een porphyrine groep voorkomt.

Om uit te maken of er in het ultrafiltraat eiwitten voorkwamen, hebben wij het zuur-precipitaat gedurende 6 h met 6N HCl gehydrolyseerd en het hydrolysaat papierchromatografisch op aminozuren onderzocht. In het verkregen hydrolysaat werden echter geen aminozuren aangetoond. Eenvoudige kwalitatieve eiwitreacties waren door de kleurstoffen in het ultrafiltraat niet te gebruiken.

Om op dit punt nog meer zekerheid te krijgen hebben wij onderzocht of het cellofaanpapier onder de omstandigheden waaronder wij werkten, al of niet doorlaatbaar was voor echte eiwitten. Daarvoor hebben wij ca. 300 ml runderbloed laten stollen en daarop de gehele massa in de membraanpers uitgeperst. Het aldus verkregen persvocht was helder en lichtgeel van kleur. Toevoegen van trichloorazijnzuur 20% of alcohol 96% met een druppel azijnzuur gaf geen neerslag. Ook de ringreactie met HNO_3 volgens HELLER, de reactie van MILLON en de xanthoproteïne-reactie waren negatief. Deze uitkomsten tonen aan, dat het ultrafiltraat geen eiwitten bevatte.

Een methode voor de scheiding van opgeloste en onopgeloste bestanddelen van mest en darminhoud moet een volledige scheiding tussen deze fracties bewerkstelligen. Wanneer de door ons gebruikte ultrafiltratietechniek aan die eis voldoet, dan zal de samenstelling van het ultrafiltraat gelijk zijn aan de samenstelling van het vocht in de onderzochte mest en darminhoud. Voor ons onderzoek echter kan worden volstaan met vast te stellen of de gehalten in het ultra-

filtraat aan de bestanddelen die in dit onderzoek zijn opgenomen, gelijk zijn aan de opgeloste gehalten in mest en darminhoud.

Bij het gebruik van cellofaanpapier dient echter nog wel te worden overdacht, dat de grotere opgeloste deeltjes de poriën van de membraan minder gemakkelijk passeren dan de kleinere ('zeef-effect'). Opgeloste eiwitmoleculen passeren zo'n membraan in het geheel niet. Het gevolg van een en ander zal zijn, dat de verhouding tussen de kleine en de grote deeltjes in het ultrafiltraat een andere is dan in de oorspronkelijke vloeistof.

Wanneer de achterblijvende grote deeltjes een lading dragen, dan zullen de kleine deeltjes met een tegengestelde lading in het doortreden worden belemmerd, hetgeen aanleiding zal geven tot het ontstaan van zg. Donnan-evenwichten. De samenstelling van een ultrafiltraat kan mede daardoor meer of minder sterk afwijken van die der uitgangsvloeistof.

VAN WEERDEN (1959) toonde reeds aan, dat de vriespuntsverlaging van mest-ultrafiltraten gelijk was aan de vriespuntsverlaging van eenvoudige filtraten van mestvocht, verkregen door uitpersen van mest door zijdegaas. Verder vond hij, dat de vriespuntsverlaging van ultrafiltraten van darminhoud, verkregen met behulp van cellofaan, een goede overeenkomst vertoonde met de vriespuntsverlaging, die rechtstreeks in de darminhoud was gemeten. Zo er, als gevolg van het ultrafiltreren, in het ultrafiltraat een andere verhouding tussen de opgeloste deeltjes bestaat dan in de oorspronkelijke vloeistof, dan is blijkbaar toch het totaal der opgeloste deeltjes per volume-eenheid in het ultrafiltraat nagenoeg gelijk aan dat in de oorspronkelijke vloeistof.

Een andere studie omtrent de vraag of de onderlinge verhouding der opgeloste deeltjes, in het bijzonder die tussen Na, K, Ca en Mg, gelijk blijft, was echter nog geenszins overbodig, vooral omdat juist deze bestanddelen voor ons onderzoek van het grootste belang waren. Ook de vraag of een volledige scheiding tussen de opgeloste en onopgeloste fracties dezer mineralen kon worden bewerkstelligd, werd nader getoetst. Teneinde te onderzoeken of een scheiding door ultrafiltratie daaraan voldeed, zijn de gehalten aan de genoemde bestanddelen in het vocht van mest en darminhoud vergeleken met de gehalten in de ultrafiltraten. Daartoe werden, behalve door filtratie onder druk door cellofaanpapier, ook nog op andere wijzen scheidingen tussen de opgeloste en onopgeloste bestanddelen bewerkstelligd.

Zo is van een drietal monsters verse mest een gedeelte gefiltreerd door fijnmazig zijdegaas en het filtraat gecentrifugeerd. Met het verzamelen van het filtraat werd gewacht, totdat een bijna helder vocht door het zijdegaas sijpelde. Voorts werden maatregelen genomen om verdamping tijdens het bereiden van de filtraten tot een minimum te beperken. Van dezelfde mestmonsters is ook een deel in duplo gefiltreerd door cellofaanpapier. Vervolgens zijn in het gecentrifugeerde filtraat en het ultrafiltraat de gehalten aan enkele minerale bestanddelen bepaald.

De uitkomsten, die in tabel I zijn weergegeven, tonen aan, dat de gehalten aan Na, K, Ca en Mg in het ultrafiltraat en in het gecentrifugeerde zijdegaasfiltraat van mest slechts weinig verschillen. Deze kleine verschillen zijn mogelijk het ge-

TABEL 1. De gehalten aan Na, K, Ca en Mg in het ultrafiltraat en het filtraat van enkele monsters mest van koeien (meq/l). De mest werd in tweevoud geultrafiltreerd door cellofaan-papier. De filtraten werden verkregen door persen van de mest door zijdegaas, gevolgd door centrifugeren.

Contents of Na, K, Ca and Mg (meq/l) in the ultrafiltrates and filtrates of feces samples of cows. The feces were ultrafiltered in duplo (A and B) through cellophane. The filtrates were made by pressing feces through silk cloth followed by centrifugation (3000 g).

	Mest van 18-3-1963			Mest van 19-2-1963			Mest van 21-5-1963		
	ultrafiltraat A	B	filtraat	ultrafiltraat A	B	filtraat	ultrafiltraat A	B	filtraat
Na	17,4	17,5	17,3	13,8	13,5	13,9	10,3	10,4	11,3
K	21,1	20,9	20,9	33,4	33,0	34,5	41,2	41,3	42,4
Ca	21,8	21,4	22,3	25,6	25,1	26,6	26,5	25,9	25,6
Mg	45,8	45,7	44,7	43,8	44,1	45,5	51,1	50,3	49,2

volg van verdamping en van analysefouten. Daaruit volgt, dat praktisch al het opgeloste Ca, Mg, K en Na in de mest van koeien ultrafiltreerbaar is en tevens dat met de ultrafiltratiemethode een volledige scheiding werd aangebracht tussen de opgeloste en de onopgeloste fracties der genoemde elementen.

Anders dan in de mest zijn in een aantal monsters darminhoud de opgeloste en onopgeloste bestanddelen niet door zijdegaas gescheiden, maar door centrifugeren bij een hoog toerental (50000 g). Dank zij de toestemming van de beheerder van het laboratorium voor Virologie van de Landbouwhogeschool, prof. dr. ir. VAN DER WANT, konden wij beschikken over een ultracentrifuge, Spinco L. 50, waarmee heldere centrifugaten van de darminhoud werden verkregen. In tabel 2 zijn de gehalten aan enkele minerale bestanddelen in de centrifugaten en de ultrafiltraten weergegeven, die van dezelfde monsters waren gemaakt.

Evenals in de mest vertoonden de gehalten aan ultrafiltreerbaar Na en K in de inhoud van zowel de dunne als de dikke darm een goede overeenkomst met de opgeloste gehalten aan die bestanddelen. Blijkbaar is ook in de darminhoud al het opgeloste Na en K ultrafiltreerbaar.

Anders dan het opgeloste Na en K blijken het opgeloste Ca en Mg in de darminhoud niet altijd volledig ultrafiltreerbaar. Vooral in de inhoud van het duodenum waren de gehalten aan opgelost Ca en Mg duidelijk hoger dan die aan ultrafiltreerbaar Ca en Mg. Het verschil bedroeg gemiddeld ongeveer 10%. Ook in de inhoud van het einde van de dunne darm en van de blinde darm werd meer opgelost dan ultrafiltreerbaar Ca en Mg gevonden, maar hier was het verschil gemiddeld slechts ongeveer 5%. In het monster uit de dikke darm was het verschil niet meer duidelijk.

In de darminhoud is derhalve een klein deel van het opgeloste Ca en Mg in niet ultrafiltreerbare vorm aanwezig. Ook in bloedplasma en melk komen het Ca en het Mg in een ultrafiltreerbare en in een niet ultrafiltreerbare vorm voor. Gebleken is dat in die vloeistoffen de aardalkalimetalen voor een deel gebonden

TABEL 2. De gehalten aan Na, K, Ca en Mg in ultrafiltraten en darmvocht (meq/l) van enkele monsters darminhoud van koeien. De ultrafiltraten werden gemaakt door filteren onder druk door cellofaan-papier; het darmvocht werd verkregen door centrifugeren in een ultracentrifuge bij 50000 g.

Concentrations of Na, K, Ca and Mg (meq/l) in ultrafiltrates and fluid of gut contents of cows. The ultrafiltrates were prepared by filtration under pressure through cellophane, while the fluid of gut contents was obtained by centrifugation in an ultracentrifuge at 50 000 g.

	Na		K		Ca		Mg	
	ultra-filtraat	darm-vocht	ultra-filtraat	darm-vocht	ultra-filtraat	darm-vocht	ultra-filtraat	darm-vocht
duodenum ZS 9	102,8	103,5	22,8	23,2	13,4	14,9	6,4	6,4
duodenum La 1	96,2	96,2	19,5	18,9	7,8	8,8	4,5	5,0
duodenum La 2	79,4	79,5	24,2	24,4	9,9	10,2	4,7	5,4
duodenum La 3	83,3	83,3	21,9	22,2	7,8	9,1	4,8	5,5
duodenum La 4	83,3	80,5	22,8	23,7	8,5	8,9	5,1	5,8
einde dunne darm 1	97,8	97,2	18,7	18,2	12,2	13,1	9,7	10,4
einde dunne darm 2	104,4	105,0	13,8	13,7	9,1	9,1	9,1	9,9
einde dunne darm 3	87,2	85,6	26,9	26,8	9,2	9,7	11,9	13,1
blindedarm A 9	96,7	102,3	38,9	39,8	11,9	12,6	16,1	17,0
blindedarm La 6	94,2	93,9	37,0	37,4	14,1	14,5	20,4	20,6
blindedarm B 2	88,9	84,7	39,6	37,8	24,8	26,8	23,8	23,9
midden dikke darm	61,3	56,0	28,7	28,4	26,0	26,7	24,0	23,3

zijn aan eiwitten. Mogelijk is een deel van het Ca en het Mg ook in de darminhoud aan opgelost eiwit gebonden.

Samenvattend kunnen wij besluiten, dat de opgeloste en de ultrafiltreerbare fracties van de inhoud uit de dikke darm en de mest slechts weinig verschillen, maar dat de door ons gebruikte ultrafiltratiemethode voor de scheiding der genoemde fracties in de inhoud van de dunne darm niet geheel bevredigend is. Een scheiding door centrifugeren met een ultracentrifuge beantwoordt hier beter aan ons doel.

2.2 DE BEPALING VAN DE CALCIUM- EN MAGNESIUMIONENCONCENTRATIE IN DARMSVOCHT

Inleiding

In verband met de resorptie van het Ca en het Mg, stellen wij belang in de activiteit van de calcium- en de magnesiumionen en wel op grond van de overweging, dat de resorptie direct afhangt van de activiteit der ionen in de darm. Wij zouden dus een methode moeten hebben, die ons in staat stelt de activiteit van

elk der ionen Ca en Mg uit het geheel der aanwezige ionensoorten afzonderlijk te meten.

Het spreekt haast vanzelf dat men, in analogie met de bepaling van de H-ionenconcentratie, getracht heeft de metaalionenconcentratie te meten met behulp van speciale elektroden. Door TENDELOO (1936a; 1936b) en anderen (zie SOUCHAY, 1947) is een aantal elektroden voorgesteld voor de meting van de activiteit van het calciumion. Verschillende van deze elektroden zijn goed bruikbaar bij modeloplossingen; maar voor biologische vloeistoffen voldoen ze geen van allen. Voor de bepaling van de activiteit van het magnesium waren dergelijke elektroden tot voor kort in het geheel niet bekend. Wij moesten dus naar andere methoden uitzien.

Bij alle andere methoden die in de literatuur (SMEETS, 1952; BOOGAERDT, 1954) worden vermeld, wordt de ionenactiviteit niet direct bepaald, maar indirect, door eerst de ionenconcentratie vast te stellen. Men maakt daarvoor dikwijls gebruik van reacties, welke men vooraf heeft bestudeerd aan proefoplossingen. Als voorbeeld kan worden genoemd de reactie van calciumionen met murexide. Indien men kan aannemen, dat de te onderzoeken elementen in de proefoplossingen geheel in de ionvorm voorkomen, dan kent men van deze oplossingen dus wel de ionenconcentratie, nog niet de activiteit.

Tussen de concentratie en de activiteit bestaat echter de volgende betrekking: $a = f \times c$, waarin a = activiteit, c = concentratie en f = activiteitscoëfficiënt. Om de activiteit van een ion in een oplossing te berekenen, moeten derhalve de concentratie en de activiteitscoëfficiënt bekend zijn. Nu is de activiteitscoëfficiënt van een ion geen constante grootheid, maar o.a. afhankelijk van het aantal en de soort der aanwezige ionen, het 'ionenmilieu'. Voor de berekening van deze activiteitscoëfficiënt hebben DEBYE en HÜCKEL bepaalde formules opgesteld. De hoogste concentratie, waarbij die formules gelden, ligt nog onder 0,1n, dus beneden de concentratie van fysiologische vloeistoffen.

De fout die ontstaat bij toepassing van de bedoelde formules op proefoplossingen, waarin de gehalten aan zouten overeenkomen met de gehalten in fysiologische vloeistoffen, is echter niet groot en valt binnen de experimentele fout van welhaast iedere indirecte bepalingsmethode van de ionenactiviteit. Daaruit volgt dat de activiteiten der verschillende ionen in samengestelde fysiologische zoutoplossingen toch wel met voldoende nauwkeurigheid uit de concentraties kunnen worden berekend. Bij biologische vloeistoffen laat deze methode ons echter in de steek, omdat deze niet enkel uit oplossingen van praktisch volkomen gedissocieerde zouten bestaan. De activiteit is daarom geringer dan die in een verdunde oplossing van sterke electrolyten. Heeft men echter een bepaalde biologische vloeistof waarin men de activiteiten wil leren kennen, dan bestaan er methoden om de ionenactiviteiten in deze vloeistof enerzijds en die in een reeks verschillende zoutoplossingen anderzijds direct met elkaar te vergelijken. Daardoor gelukt het om al probeerend ten slotte een zoutoplossing samen te stellen, waarin de activiteiten van alle afzonderlijke ionen overeenkomen met die van dezelfde ionen in de onderzochte biologische vloeistof. Berekent men nu de activiteit der verschillende ionen in deze zoutoplossing, dan heeft men daarmee

dus ook de ionenactiviteiten in de onderzochte biologische vloeistof gevonden. Het zal later blijken, dat deze berekening voor ons doel niet strikt noodzakelijk was, zodat wij met de vergelijking van de activiteiten als zodanig genoegen hebben genomen.

Zo hebben VAN KREVELD en VAN MINNEN (1955) en CHRISTIANSEN et al. (1954) de activiteit van de calcium- en magnesiumionen in melk vergeleken met die in proefoplossingen, waarin de kationen K, Na, Ca en Mg als chloriden aanwezig waren. Genoemde onderzoekers maakten gebruik van de eigenschap van een kationenwisselaar (kunsthars) om uit een zoutoplossing de kationen te adsorberen overeenkomstig de activiteitsverhoudingen dier kationen. Zij schudde melk met een hoeveelheid van de ionenwisselaar, die vooraf in evenwicht was gebracht met een oplossing, waarvan de activiteiten der kationen overeenkwamen met de activiteiten die zij in het ultrafiltraat van het te onderzoeken melkmonster verwachtten. Door deze wijze van werken bereikten zij dat de minerale samenstelling van de melk niet of nauwelijks veranderde tijdens de behandeling met de ionenwisselaar. Nadat evenwicht was ingetreden tussen de ionen in de melk en die aan de hars werd de ionenwisselaar afgezonderd, gewassen en met zoutzuur geëluëerd. De samenstelling van het eluaat gaf dan inlichtingen over de onderlinge verhouding van de activiteiten der verschillende ionen in de melk.

Zoals gezegd, is het verband tussen de samenstelling van het eluaat en de activiteit der ionen niet eenvoudig theoretisch af te leiden. Men ging daarom zó te werk, dat men analyses verrichtte van eluaten, verkregen met verschillende proefoplossingen en uit de uitkomsten een ijktable voor de ionenwisselaar opstelde. Aldus kregen VAN KREVELD en VAN MINNEN uitkomsten, die goed overeenkwamen, zowel met die op overeenkomstige wijze (CHRISTIANSEN et al., 1954) als met die welke op geheel andere wijze (SMEETS, 1952) waren verkregen.

Uitgangspunt van de ionenwisselaarmethode is, dat bij gelijke totale belading van de ionenwisselaar de onderlinge verhoudingen der ionen aan de ionenwisselaar variëren en wel overeenkomstig de activiteitsverhoudingen in de oplossing, waarmee geëquilibreerd is. Gedurende de behandeling van de kunsthars met de oplossing stelt zich nl. een evenwicht in tussen de ionen aan de kunsthars en die in de oplossing. Wanneer derhalve de geadsorbeerde hoeveelheden van de verschillende ionen uit twee oplossingen aan de hars gelijk zijn en bovendien de activiteit van één ion in beide oplossingen op grond van theoretische overwegingen eveneens als gelijk kan worden beschouwd, dan moet ook elk der andere ionen in de twee oplossingen gelijke activiteit hebben. Voor theoretische beschouwingen en meer bijzonderheden betreffende deze methode mogen wij verwijzen naar de verhandeling van VAN KREVELD en VAN MINNEN (1955), die van CHRISTIANSEN et al. (1954) en die van SAMUELSSON (1963).

Voor een vergelijking van de activiteit van het Ca en het Mg in ultrafiltraten van darminhoud met die in proefoplossingen, zijn wij uitgegaan van de methode, die door VAN KREVELD en VAN MINNEN (1955) werd ontwikkeld. Genoemde onderzoekers equilibreerden 10 ml natte, op een bepaalde wijze voorbeladen hars (ongeveer 9 g Duolite C 20) tweemaal met 1 l melk. Wij konden evenwel over

slechts ongeveer 200 ml darmvocht per bepaling beschikken. Daarom zijn wij uitgegaan van kleinere hoeveelheden hars – aanvankelijk 3 g, later 1 g – die echter enige malen vaker met kleine hoeveelheden vloeistof werden geschud. Hierdoor werd bereikt, dat veranderingen in de samenstelling van de te onderzoeken vloeistof, als gevolg van uitwisseling met de ionen aan de voorbeladen hars, alleen in de eerste 5 à 6 porties konden worden aangetoond. Uiteraard werd aan de voorbelading steeds grote zorg besteed.

VAN KREVELD en VAN MINNEN (1954) namen aan, dat het K in melk geheel in de ionvorm aanwezig is. Het bleek hun bij hun onderzoek, dat het Na dan eveneens geheel in de ionvorm moet voorkomen. Wij hebben aangenomen, dat in het ultrafiltraat van darmvocht het Na en het K beide geheel in de ionvorm voorkomen. Omdat de gehalten aan ammoniak (CONWAY) in darmvocht betrekkelijk laag zijn en de affiniteit van de gebruikte kunsthars voor het ammoniumion gering is, hebben wij gemeend geen ernstige fout te maken door aan te nemen, dat het ammoniak eveneens geheel als ion aanwezig was.

De behandeling van de hars

Als kationenwisselaar werd gebruikt Dowex 50 — $\times 12$. Deze ionenwisselaar is een polymerisatieprodukt van styreen en een kleine hoeveelheid divinylbenzeen, waarin sulfonzuurgroepen ($-\text{SO}_3^-$) zijn ingebouwd. De negatieve SO_3^- -groepen zijn in de uitgangsvorm bezet met uitwisselbare H-ionen. Door behandelen met een zoutoplossing worden de H-ionen vervangen door de kationen uit de oplossing. De uitwisselingscapaciteit is in slechts geringe mate afhankelijk van de pH der oplossing (VOGEL, 1962).

Voorafgaande aan de bepaling werden de kleinste deeltjes van de kunsthars verwijderd door herhaald schudden met water en afgieten van de vloeistof nog vóór de bezinking volledig was. Dan bleven harsdeeltjes over met een adsorptiecapaciteit van ongeveer 4 meq/g droge stof of 1,8 meq/g natte hars (droge stof gehalte 45%).

Aan 20 g natte hars werd een zodanige oplossing van KCl , MgCl_2 , CaCl_2 , NH_4Cl , NH_4OH en NaOH toegevoegd als nodig was om de hars een belading te geven, die naar verwachting eveneens door het te onderzoeken darmvocht zou worden gegeven. De daartoe vereiste samenstelling van het minerale mengsel werd berekend. Het gebruiken van loog (NH_4OH en NaOH) was noodzakelijk om de H-ionen, die van de hars vrij kwamen, te neutraliseren. Er werd steeds zoveel NH_4OH gebruikt als nodig was om de waarden van de pH tussen 5 en 7 te houden. Binnen deze grenzen is de invloed van de pH op de belading te verwaarlozen. De rest van het ammoniumzout werd als NH_4Cl toegevoegd.

Na ongeveer een uur schudden op een schudmachine en laten bezinken werd de oplossing van de hars afgeschonken, waarna tweemaal met aqua dest. werd nagewassen. Ten slotte werd de hars overgebracht in bekersglazen en onder water bewaard. Om vast te stellen of de belading van de hars overeenkwam met de gewenste, werd 1 g hars geëluëerd en het eluaat geanalyseerd. Indien het nodig bleek, werd nogmaals geschud, maar met een gewijzigde oplossing.

De equilibrering van de kunsthars

In buizen met een ingebouwd G2-glasfilter (zg. Allinsche buizen) en met een inhoud van 30 ml werd 3 g, later 1 g van de voorbeladen, natte hars gewogen. De buizen werden tussen klemmen in verticale positie gehouden. Nadat een buis aan de uitloopzijde was gesloten, werd op de hars 20 ml darmvocht of proefoplossing geschonken. Hierna werd de buis ook aan de vulzijde zorgvuldig dicht gemaakt en op een schudmachine geplaatst. Na een kwartier schudden werd de buis weer in verticale positie vastgeklemd en aan beide zijden geopend om de vloeistof te laten aflopen. Het glasfilter onder in de buis belette het meevoeren van de harsdeeltjes. Vervolgens werd weer 20 ml vloeistof op de kunsthars gebracht en opnieuw geschud. Dit werd ten minste negen maal gedaan. Daarna werd de hars met gedestilleerd water gewassen en wel vijf maal, telkens met ongeveer 10 ml. Vervolgens werden de kationen geëluëerd met zoutzuur: eerst werd de hars met 20 ml 6% HCl gedurende een kwartier geschud, waarna tweemaal met 10 ml van een 3% zoutzuuroplossing werd nagewassen. Ten slotte werd nog nagewassen met sterk verdunde HCl tot aan de 100-ml-ijkstreep van de kolf, waarin het eluaat werd opgevangen.

De eluaten werden in duplo geanalyseerd op hun gehalten aan Na, K, Ca, Mg en NH_3 met behulp van de hierna te beschrijven methoden. Wanneer het verschil tussen de duplo's meer dan 5% bedroeg, dan werd een derde bepaling verricht. Voor de complexometrische titratie van het Ca en Mg werd het sterk zure eluaat vooraf geneutraliseerd met NaOH.

Toepassing

Na het verzamelen van de monsters darminhoud werd zo spoedig mogelijk, in elk geval binnen 4 h na het verkrijgen uit de darm, een scheiding van de opgeloste en de onopgeloste bestanddelen door ultrafiltreren bewerkstelligd. Het darmvocht werd dan onmiddellijk of na een nacht bewaren in de koelcel geëquilibreerd met voorbeladen kunsthars. Tegelijkertijd werden de analyses van het darmvocht ingezet. Waren de uitkomsten van die analyses bekend, dan werden proefoplossingen gemaakt, waarin de gehalten aan Na, K en NH_3 overeenkwamen met de gevonden gehalten in het darmvocht, terwijl de gehalten aan Ca en Mg varieerden. Er werd naar gestreefd om de gehalten aan Ca en Mg zodanig te kiezen, dat de proefoplossing een zelfde belading aan de kunsthars gaf als het darmvocht had gedaan. Dit laatste werd meermalen echter pas bereikt, nadat een groot aantal oplossingen was beproefd. Daarom werd een andere weg ingeslagen.

Een kleine hoeveelheid voorbeladen kunsthars werd geëquilibreerd met darmvocht. Andere porties van die kunsthars werden behandeld met enkele proefoplossingen, meestal drie. De proefoplossingen waren samengesteld zoals hiervoor werd vermeld. Van de uitkomsten van een groot aantal reeds uitgevoerde proeven werden de multiple regressies berekend van de onderlinge verhoudingen der ionen in de proefoplossingen t.o.v. de onderlinge verhoudingen in de eluaten. Zowel in de eluaten als in de proefoplossingen werd de som der genoemde vijf ionen op 100 gesteld. Met behulp van de aldus vastgestelde regres-

sies werd uit de uitkomsten van de proefoplossingen berekend, bij welke samenstelling van deze oplossingen een zelfde belading van de hars kon worden verwacht als door het darmvocht in kwestie was gegeven. De oplossing met de aldus berekende samenstelling werd iso-actieve oplossing genoemd.

Zoals hiervoor werd vermeld kan de activiteit van het calcium- en magnesiumion worden berekend uit de concentratie in de iso-actieve oplossing als zoëven bepaald. Zulke berekeningen zijn echter zeer bewerkelijk en kunnen niet meer zijn dan benaderingen van de werkelijke activiteiten. Wij hebben van het maken van die berekening afgezien, omdat wij van mening zijn, dat fysiologisch belangrijke veranderingen in de ionenactiviteit van het Ca en het Mg in de darminhoud zich in voldoende mate weerspiegelen in de ionenconcentratie van de iso-actieve oplossing.

Reproduceerbaarheid

De equilibrering van de hars met darmvocht werd gewoonlijk in enkelvoud verricht en wel omdat over slechts betrekkelijk kleine hoeveelheden darmvocht kon worden beschikt. Om een indruk te geven van de reproduceerbaarheid van de harsmethode zijn in tabel 3 de analyseuitkomsten gegeven van proeven waarin kunsthars in tweevoud geëquilibreerd werd met melk in vergelijking met enkele proefoplossingen. De gebruikte hars was vooraf beladen met Na, K, Ca en Mg en wel zodanig, dat deze belading overeen kwam met de gemiddelde belading in de proeven van VAN KREVELD en VAN MINNEN. Melk werd gekozen, omdat van deze biologische vloeistof gemakkelijk over de hoeveelheden kon worden beschikt, die voor de bepalingen in tweevoud nodig waren. Bovendien konden de uitkomsten worden vergeleken met die van VAN KREVELD en VAN MINNEN.

TABEL 3. De uitkomsten van proeven waarin de kunsthars Dowex 50— $\times 12$ in tweevoud werd geëquilibreerd met melk en met proefoplossingen, die in minerale samenstelling met het ultrafiltraat van melk overeenkwamen. *Results of experiments in which the resin Dowex 50— $\times 12$ was equilibrated in duplo with milk and with standard solutions of a composition comparable with milk-ultrafiltrate.*

	g Hars	Gehalten in de melk resp. proefoplossing in meq/l				Belading van de kunsthars meq/l eluaat					Belading van de hars in % van de totale belading			
		Na	K	Ca	Mg	Na	K	Ca	Mg	totaal	Na	K	Ca	Mg
melk I	3	16,1	39,7	59,2	10,9	3,33	17,42	31,56	3,34	55,65	5,98	31,31	56,71	6,00
duplo						3,34	17,66	31,70	3,44	56,14	5,95	31,46	56,46	6,13
melk II	3	22,8	39,3	54,2	9,0	4,78	18,86	28,84	4,23	56,71	8,44	33,26	50,84	7,46
duplo						4,81	18,94	28,55	4,19	56,49	8,52	33,52	50,54	7,42
melk III	3	17,9	38,9	52,4	10,2	3,58	18,01	26,44	4,12	52,15	6,86	34,54	50,70	7,90
duplo						3,58	18,57	26,31	4,25	52,71	6,79	35,23	49,92	8,06
proefopl. P	2	18,3	42,1	5,8	1,8	2,34	11,96	20,54	2,49	37,33	6,27	32,04	55,02	6,67
duplo						2,34	11,86	20,26	2,61	37,07	6,32	31,99	54,65	7,04
proefopl. S	2	18,3	42,1	4,8	1,2	2,46	12,36	19,98	2,44	37,24	6,61	33,19	53,65	6,55
duplo						2,46	12,20	19,63	2,18	36,47	6,75	33,45	53,82	5,98
proefopl. T	1	18,2	41,8	4,0	2,0	1,36	6,27	8,98	1,61	18,22	7,46	34,41	49,29	8,84
duplo						1,33	6,29	8,82	1,47	17,91	7,42	35,12	49,25	8,21

In de proeven met de zoutoplossingen werd met 2 en later met 1 g kunsthars geëquilibreerd, omdat inmiddels gebleken was, dat bij de voorbelading van de hars méér Ca en minder Mg geadsorbeerd was dan in de bedoeling lag. Daardoor was na negen maal schudden van proefoplossing en 3 g hars nog geen evenwicht ingetreden. Dat werd wel bereikt wanneer de oplossingen met 1 of met 2 g kunsthars werden behandeld.

Uit tabel 3 blijkt de goede reproduceerbaarheid van deze methode; de gehalten aan Na, K en Ca in de eluat en zowel als de totale beladingen van de kunsthars stemmen goed overeen. Minder goede duplo-waarden werden met het Mg verkregen. Maar dit is het gevolg van de analysefout voor dit element. De gehalten aan Ca + Mg vertonen echter wél een goede overeenkomst.

VAN KREVELD en VAN MINNEN vonden, dat gemiddeld per l melk 4,4 meq Ca en 1,6 meq Mg in de ionvorm voorkwamen.

In de door ons gebruikte proefoplossingen varieerden de gehalten aan Ca van 4,0 tot 5,8 en die van Mg van 1,2 tot 2,0 meq per l.

Deze oplossingen gaven een belading van de hars, die weinig verschilde van de belading die door de melk was gegeven. De activiteit van het Ca en van het Mg in melk zal derhalve ten naaste bij overeenkomen met die in de door ons gebruikte proefoplossingen, hetgeen vrij goed overeenkomt met de uitkomsten van VAN KREVELD en VAN MINNEN.

BOOGAERDT (1954) verkreeg voor de calciumionenconcentratie in het bloedplasma van koeien een gemiddelde waarde van 2,8 meq per l, terwijl het totale Ca-gehalte 4,7 meq per l bloedplasma bedroeg. Een vergelijking van deze waarden met die in de melk toont aan, dat de calciumionenconcentratie van melk slechts ongeveer anderhalf maal zo hoog is als die van het bloedplasma, niettegenstaande het totale Ca-gehalte van melk 12 tot 15 maal zo hoog is als dat in het bloedplasma. In melk is derhalve een veel groter gedeelte van het Ca gebonden dan in het bloed.

2.3 CHEMISCHE ANALYSES

2.3.1 Voorbereiding van de monsters

Voor de bepaling van de gehalten aan Na, K, Ca en Mg werden passende hoeveelheden van het darmvocht (25 ml), de melk (25 ml), de urine (50 ml) en de verse darminhoud (25 g) in platina schalen op het waterbad ingedampt en vervolgens verast gedurende 3 h bij 500°C in een elektrische moffeloven (merk Heraeus). Van de gedroogde mest en voedermiddelen werd ongeveer 1 g verast. De as werd op het waterbad tweemaal met HCl ingedampt en daarna met een druppel HCl 6% in gedestilleerd water (15 ml) opgelost.

Omdat fosfaat een storende invloed op de bepaling van het Ca en het Mg bleek te hebben, werd in de asoplossing een fosfaatscheiding toegepast. Daarvoor werd gebruik gemaakt van een kunsthars met eigenschappen van een sterke anionenwisselaar (Amberlite, I.R. 400). Van deze anionenwisselaar werd een hoeveelheid in een glazen buis met een diameter van 12 mm gewassen. De hoogte van de kolom was ongeveer 25 cm. Vóór het gebruik werd de kunsthars met

HCl 6% in de chloride-vorm gebracht en met gedestilleerd water gewassen, totdat met AgNO_3 geen Cl meer in het effluent kon worden aangetoond.

Om vervuiling van de kunsthars te voorkomen werd boven de kolom een trechter met een glaswolprop geplaatst, waarna de asoplossing in de trechter geschonken werd.

De loopsnelheid van de vloeistof in de kolom werd zodanig ingesteld, dat de gewenste uitwisseling van PO_4 -ionen uit de asoplossing tegen de Cl-ionen van de kunsthars was gewaarborgd. Filter en hars werden gewassen met porties van ongeveer 10 ml gedestilleerd water, totdat de maatkolf van 100 ml, waarin de oplossing werd opgevangen, tot de deelstreep toe gevuld was. Wij hebben ons er van overtuigd, dat aldus geen waarneembare hoeveelheden der kationen in de hars achterbleven.

In de aldus voorbereide asoplossing werden het Na, K, Ca en Mg bepaald. In bloedplasma, proefoplossingen en eluatën werden de gehalten aan de minerale bestanddelen rechtstreeks, dus zonder verassing, vastgesteld.

2.3.2 Na en K

De gehalten aan Na en K werden bepaald met een vlamfotometer (Kipp, HD 45). De vlam werd gevoed met propaangas. Als standaardoplossingen werden mengsels van Na en K gebruikt. De verhouding van de alkalimetalen in deze oplossingen werd aangepast aan de verhouding in de te onderzoeken monsters.

2.3.3 Ca en Mg

De bepaling van het Ca en Mg geschiedde in twee etappes. Eerst werd door titratie met complexon (E.D.T.A.) en eriochroomblauwzwart als indicator de som van Ca en Mg bepaald en daarna werd in een tweede portie het Ca getitreerd, eveneens met complexon, maar nu met murexide als indicator. De titraties werden uitgevoerd op een colorimeter (Vitatron). Het verschil in uitkomst leverde het gehalte aan Mg.

Deze methode ter bepaling van het Mg-gehalte is niet ideaal, omdat zowel de fout bij de bepaling van $\text{Ca} + \text{Mg}$ als de fout bij de Ca-bepaling tot uiting komen in het Mg-gehalte. Vooral in monsters, waarin naar verhouding veel Ca en weinig Mg voorkwam, werden slechte duplo-waarden voor het Mg verkregen. Later, toen wij konden beschikken over een atoomabsorptievlamspectrofotometer (Techtron - A 100) werd in een aantal monster het Mg-gehalte rechtstreeks bepaald, hetgeen de nauwkeurigheid ten goede kwam.

In bloedplasma werd het Ca eveneens complexometrisch vastgesteld. Het Mg daarentegen werd hier met de titaangeelmethode bepaald. De kleuromslag bij titratie van $\text{Ca} + \text{Mg}$ met complexon en eriochroomblauwzwart als indicator was bij bloedplasma nl. niet scherp, zodat het eindpunt niet nauwkeurig was vast te stellen.

2.3.4 Ammoniak

Voor de bepaling van het gehalte aan ammoniak is gebruik gemaakt van

Meded. Landbouwhogeschool Wageningen 67-5 (1967)

schalen volgens Conway-Lips. In het buitenste compartiment van deze schalen werd de NH_3 uit het darmvocht vrijgemaakt door toevoeging van K_2CO_3 . Dit NH_3 diffundeerde door de gasfase over naar een boorzuuroplossing met indicator, die in het binnenschaaltje aanwezig was. De vloeistof in het binnenschaaltje werd vervolgens getitreerd met verdunde HCl tot de oorspronkelijke kleur van de indicator.

2.3.5 Fosforzuur

Voor de bepaling van het gehalte aan fosforzuur werd een colorimetrische methode volgens SCHEEL (1936) gebruikt. Deze berust op de bekende methode van FISKE en SUBBAROW (1925). Bij de uitvoering werd in hoofdzaak het voorschrift van RAMEAU en TEN HAVE (1951) gevolgd.

2.3.6 Koolzuur

De bepaling van koolzuur geschiedde in een gesloten glazen systeem, dat is beschreven door HAUSDING (1954). Het apparaat bestaat uit drie boven elkaar geplaatste kolfjes, die gedeeltelijk gevuld werden met een bekende hoeveelheid $\text{Ba}(\text{OH})_2$. Onder aan de kolfjes werd een rondbodemkolf aangesloten, waarin het te onderzoeken materiaal werd gedaan. Via een kleine zijopening werd een hoeveelheid 1:1 verdund zoutzuur bij het materiaal gebracht om het CO_2 vrij te maken en vervolgens werd het vrijgekomen CO_2 met een stikstofstroom naar de kolfjes met $\text{Ba}(\text{OH})_2$ gedreven. Door titratie met zoutzuur werd bepaald hoeveel BaCO_3 door het vrijgekomen CO_2 was ontstaan.

2.3.7 Cr_2O_3

Voor de bepaling van het Cr_2O_3 , dat in verschillende proeven als merksubstantie van mest en darminhoud werd gebruikt, is een door STEVENSON en DE LANGEN (1960) beschreven methode toegepast. In de as van mest en darminhoud werd het Cr_2O_3 tot bichromaat geoxydeerd met een mengsel van H_2SO_4 , H_3PO_4 , MnSO_4 en KB_2O_3 . Het gehalte aan bichromaat werd in alkalisch milieu colorimetrisch bepaald met een Beckman D.U.-spectrofotometer.

Voor de blanco en de standaarden werd mest verast van koeien, waaraan geen Cr_2O_3 was verstrekt. Deze as werd geoxydeerd met het zuurmengsel en daarna in een maatkolf van 100 ml tot de ijkstreep verdund, zoals dat ook met de te onderzoeken monsters werd gedaan. Aan hoeveelheden van 100 ml dezer oplossingen werden de volgende hoeveelheden toegevoegd van een bichromaatoplossing, die 1 mg Cr_2O_3 per ml bevatte: 0 ml (blanco), 0,2 ml, 0,5 ml en 1 ml. Daarna werd gehandeld overeenkomstig het voorschrift. Bij iedere serie bepalingen werden de blanco en de standaarden opnieuw meegenomen.

2.3.8 Polyethyleenglycol (P.E.G.)

In een gering aantal proeven is naast Cr_2O_3 ook nog P.E.G. als merksubstantie gebruikt. De bepaling van het P.E.G. geschiedde volgens een door HYDÉN (1955) beschreven turbidimetrische methode. In afwijking van het voorschrift werden de metingen verricht precies 10 minuten i.p.v. 5 minuten na het toevoegen van het tichloorazijnzuur- BaCl_2 reagens.

2.4 ANDERE BEPALINGEN

2.4.1 Droge stof

De bepaling van het droge-stof-gehalte van de voedermiddelen, de mest en de darminhoud geschiedde in twee stadia. Eerst werd gedroogd bij 60°C gedurende 24 tot 72 h, waarna het gedroogde materiaal enkele uren aan de lucht werd blootgesteld, alvorens het nu 'luchtdroge' materiaal te wegen. Later, nadat het was gemalen en opgeslagen in glazen flessen met ingeslepen stop, werd het vochtgehalte van het luchtdroge materiaal bepaald door drogen van ongeveer 2 g bij 100°C tot constant gewicht. Het droge-stof-gehalte werd berekend door het luchtdroge-stof-gehalte te corrigeren voor het vochtgehalte van het luchtdroge materiaal.

In enkele monsters mest is het droge-stof-gehalte ook rechtstreeks bepaald door drogen in een droogstof van ongeveer 10 g vers materiaal tot constant gewicht. De uitkomsten, met beide methoden verkregen, stemden goed overeen.

Van de dunne-darm-inhoud, van de filtraten van mest en darminhoud en van het darmvocht werd in verschillende proeven ca. 25 g op een waterbad ingedampt en daarna bij 100°C tot constant gewicht gedroogd.

2.4.2 Waterstofionen-concentratie

Voor de metingen van de pH der vloeistoffen is aanvankelijk gebruik gemaakt van een Leeds en Northrup-pH-meter. Bij elke serie van bepalingen werd de pH-meter vooraf ingesteld op pH = 4,00 met 0,05 m kaliumbiftalaat en gecontroleerd met een bufferoplossing volgens SÖRENSEN met een pH van 6,81.

Daar deze pH-meter verschillende malen niet gebruikt kon worden, is de pH in een aantal gevallen met lyphaan-papier bepaald. Zoals bekend geeft deze laatste methode geen nauwkeurige uitkomsten; afwijkingen van enkele tiende pH-eenheden kunnen gemakkelijk voorkomen.

Later konden wij beschikken over een Beckman-pH-meter, model G.S. Voor de instelling van dit instrument werd gebruikt gemaakt van een handelsmerk-bufferoplossing (Beckman - 3581) met een pH = 7,02 bij 20°C.

In de darminhoud heerst een veel hogere CO₂-spanning dan in de lucht. Blootstellen van darminhoud aan de lucht heeft ten gevolge, dat CO₂ ontwijkt, waardoor het CO₂-gehalte daalt en de pH stijgt. In tabel 4 zijn de uitkomsten opgenomen van pH-metingen in de verse darminhoud, in de darminhoud na koelen in een koelcel bij 4°C en in de ultrafiltraten van de darminhoud. De metingen in de verse darminhoud werden uitgevoerd bij een temperatuur van ongeveer 30°C. Na het meten van de pH werd de membraanpers met de darminhoud gevuld en ongeveer 4 h nadien werd de pH van het ultrafiltraat zowel als van de oorspronkelijke darminhoud gemeten. Nu werden de metingen verricht bij ongeveer 10°C. Deze metingen zijn 24 h later herhaald.

Hoewel de darminhoud bewaard werd in goed gesloten kunststofflessen, bleek de pH niettemin aanzienlijk te stijgen. Deze stijging was het sterkst in de eerste uren na het verzamelen. Het ultrafiltreren van de duodenuminhoud had wederom een stijging ten gevolge, waardoor de pH van het ultrafiltraat van duodenuminhoud ongeveer 1 pH-eenheid hoger werd gevonden dan die van het verse

TABEL 4. Het verloop van de pH en het elektrisch geleidingsvermogen in 10^2 micromho's van de darminhoud bij bewaren en ultrafiltreren.

Change of pH and electric conductivity in 10^2 micromho's of gut contents upon standing and during ultrafiltration.

inhoud uit	'verse' darm inhoud		na het ultrafiltreren				ca. 24 h na het ultrafiltreren			
	in de darminhoud		in de darminhoud		in het ultrafiltraat		in de darminhoud		in het ultrafiltraat	
	pH	el. gel. verm.	pH	el. gel. verm.	pH	el. gel. verm.	pH	el. gel. verm.	pH	el. gel. verm.
duodenum 12-5	3,61		4,42		4,78					
einde dunne darm 28-6	7,65	97	8,17	93	8,06	107	8,39	84	8,17	94
duodenum 28-6	4,15	114	4,50	112	4,94	118	4,67	111	4,97	116
einde dunne darm II	7,52	80	8,41	78	8,20	92	8,62	78	8,39	87
duodenum 29-6	4,11	114	4,48	114	4,98	112	4,59	109	4,65	112
einde dunne darm 20-6	7,53	83	8,27	84	8,04	98	8,36	87	8,24	97
duodenum 29-6 III	4,62	126	4,96	126	5,48	125			5,18	125

materiaal. De pH van het ultrafiltraat van de inhoud uit het einde van de dunne darm was ongeveer 0,5 pH-eenheid hoger dan die van de verse darminhoud, maar ongeveer 0,2 pH-eenheid lager dan die van de darminhoud, waarvan het ultrafiltraat was bereid.

Er is niet onderzocht waardoor deze sterke stijging werd veroorzaakt. Ontwijken van CO_2 lijkt een belangrijke oorzaak, maar mogelijk spelen ook nog andere factoren een rol, bijv. enzymatische omzettingen.

Bij onze proeven was het praktisch niet te voorkomen, dat de monsters darminhoud met de lucht in aanraking kwamen. Wel is er naar gestreefd om tijdens het ultrafiltreren het contact tussen lucht en ultrafiltraat zo veel mogelijk te beperken. Zoals reeds eerder in dit hoofdstuk is gezegd, werd stikstofgas gebruikt om mest en darminhoud in de membraanpers onder druk te zetten, waarbij enig CO_2 in het stikstofgas kan ontwijken. Met het filtraat ontweek ook steeds gas, hetgeen met CO_2 -verlies uit het ultrafiltraat gepaard zal zijn gegaan. Er zal daarom bij de interpretatie van de uitkomsten der proeven met een pH-stijging rekening moeten worden gehouden.

2.4.3 Elektrisch geleidingsvermogen

Het elektrisch geleidingsvermogen van een oplossing is een maat voor de totale hoeveelheid electrolyten. In een vloeistof geschiedt het transport van de elektrische stroom immers uitsluitend door de ionen.

Het elektrisch geleidingsvermogen van de ultrafiltraten en het darmvocht werd gemeten met een weerstandsmeter, die was ontworpen door de Stichting Fysische en Technische Dienst voor de Landbouw te Wageningen. De uitkomsten zijn uitgedrukt in honderdtallen van micromho's. Ter oriëntatie zij vermeld, dat het geleidingsvermogen van een 0,1m NaCl-oplossing bij 21°C 92×10^2 micromho's bedraagt.

In tabel 4 zijn de uitkomsten van enkele metingen van het elektrisch gelei-

dingsvermogen in darminhoud als zodanig en in ultrafiltraten daarvan gegeven. Het geleidingsvermogen van de duodenuminhoud en van het ultrafiltraat daarvan komen goed met elkaar overeen. In het ultrafiltraat van de inhoud uit het einde van de dunne darm werd een groter geleidingsvermogen gemeten dan in het verse materiaal. De oorzaak daarvan is zeer waarschijnlijk het grote verschil in consistentie tussen ultrafiltraat en darminhoud.

2.4.4 *Het elektrische potentiaalverschil tussen bloed en darminhoud*

Het elektrische potentiaalverschil tussen pens- en darmlumen enerzijds en het bloed anderzijds werd gemeten bij koeien met fistels in de pens en in de dunne darm. Voor deze metingen werd een Beckman-pH-meter (type G.S.) als millivoltmeter gebruikt.

Twee calomelelectroden werden ieder afzonderlijk in een beker met verzadigde KCl geplaatst en op de pH-meter aangesloten. Vervolgens werden verbindingen gemaakt tussen het bloed en de ene electrode en tussen de darminhoud en de andere electrode. Daartoe werd een slang van kunststof via een canule in de halsader gebracht; vervolgens werd bloed aangezogen door de slang, waarna het einde van de slang in een van de bekertjes met de verzadigde KCl-oplossing werd gelegd. Een goed geleidende verbinding tussen het maagdarmkanaal en de andere electrode werd verkregen met een kunststofslang, die gevuld was met een verzadigde KCl-oplossing, waaraan 2% agar agar was toegevoegd. Deze 'agar-brug' voldeed vrij goed, al moest tijdens de metingen het einde van de slang in de darminhoud van tijd tot tijd worden vernieuwd.

Vóór en enige malen tijdens de metingen werd de millivoltmeter op nul ingesteld door beide elektroden in één beker met KCl-oplossing te plaatsen.

2.5 BEREKENINGEN

Bij de analyse der ultrafiltraten en darmvochtten zijn de gehalten aan de verschillende kationen uitgedrukt in meq per l; het fosfaatgehalte is uitgedrukt in mmol per l. De gehalten aan de minerale bestanddelen in mest en darminhoud zijn eveneens opgegeven in meq, resp. mmol, maar nu per kg vers materiaal. Bij de berekening van het gedeelte van de mineralen die in opgeloste vorm in mest en darminhoud voorkwamen, is verondersteld, dat het aantal ml ultrafiltraat resp. darmvocht in het verse materiaal gelijk gesteld mag worden aan het aantal grammen gewichtsverlies gedurende het droogproces tot werkelijke droge stof. Wanneer derhalve a g mest b g droge stof bevatte, dan werd het aantal ml ultrafiltraat gesteld op $a-b$ ml. Het volume, dat door de opgeloste stoffen werd ingenomen, is dus verwaarloosd. De fout die hierdoor wordt gemaakt, is slechts gering. Uit de bepaling van het soortelijk gewicht en het droge-stof-gehalte van de ultrafiltraten van enkele monsters darminhoud berekende VAN WEERDEN (1959), dat 1 g droge stof een volume inneemt van ongeveer 0,3 à 0,6 ml. In ultrafiltraten van darminhoud vonden wij een drogestof-gehalte van 1 à 1,5 g per 100 ml, waardoor dus een volume wordt ingenomen van slechts 0,3 à 0,9 ml, hetgeen voor deze proeven van weinig of geen belang was.

3. DE PROEFNEMINGEN

3.1 DE TOESTAND VAN ENKELE MINERALEN IN DE MEST VAN KOEIEN

Ofschoon de toestand van de mineralen in de darminhoud, dus op de plaatsen waar zij geresorbeerd worden, van meer belang is dan hun toestand in de mest, zijn wij toch met het onderzoek van de mest aangevangen, omdat deze steeds vers te verkrijgen is en de te gebruiken technieken daarmee dus gemakkelijk konden worden uitgewerkt en getoetst.

Bij dit eerste onderzoek, verricht aan een aantal willekeurige mestmonsters, werden de gehalten aan Ca, Mg en P in de mest als zodanig en in het ultrafiltraat daarvan bepaald. Al bleken deze gehalten sterk te schommelen, niettemin viel het op, dat van de totale hoeveelheden Mg in de mest van twee dieren op grasrantsoenen een kleiner percentage ultrafiltreerbaar was dan bij de meeste andere dieren die winterrantsoenen toegediend kregen.

Dit was belangwekkend. Immers wanneer dit ook het geval zou zijn in die gedeelten van de darm waar de resorptie plaatsvindt, dan zou daarmee een gerede verklaring kunnen worden gegeven voor de waarnemingen van KEMP et al. (1961) en van ROOK et al. (1958a; 1958b), die bij balansproeven vonden, dat Mg uit gras nog minder goed wordt geresorbeerd dan uit winterrantsoenen.

Daarom werd dit onderzoek naar de toestand van de aardalkaliën in de mest op een meer systematische wijze in twee proeven met melkkoeien voortgezet. Na, K en P werden er eveneens bij betrokken met het oog op hun eventuele wisselwerkingen met het Ca en Mg.

3.1.1 Twee voederproeven met melkkoeien

3.1.1.1 Proef met Betsy 2 en Witschoft 5 op een winterrantsoen (eerste proefperiode) en op een grasrantsoen (tweede proefperiode)

Er waren twee proefkoeien. Koe Betsy 2 was 6 jaar, woog 590 kg en gaf bij de aanvang der proeven 16 kg melk; bij koe Witschoft 5 was dit 5 jaar, 450 kg l.g. en 15 kg melk.

Eerste proefperiode (winterrantsoen; 3–20 april 1962)

Betsy 2 kreeg in deze periode een rantsoen, dat bestond uit 9 kg hooi, 4 kg koek en 4 kg gedroogde bietenpulp; Witschoft 5 ontving evenveel hooi en koek, maar slechts 3 kg pulp.

Na een voorperiode van 10 dagen werden gedurende 17 dagen de mest en de urine afzonderlijk opgevangen en dagelijks gewogen. Een maal per drie dagen werden van de verse mest en de urine van één etmaal monsters genomen en wel zo, dat steeds één dag voordat de mest bemonsterd werd van de urine een monster werd genomen. Deze monsters dienden voor de bepaling der mineralen. Voorts werden van de mestmonsters ultrafiltraten bereid.

Ook werden af en toe melkmonsters genomen, terwijl het bloed vóór en na deze eerste proefperiode werd onderzocht.

Tweede proefperiode (grasrantsoen; 1-21 mei 1962)

Op 1 mei, toen er voldoende gras beschikbaar was, vond de overgang naar grasrantsoen op één maal plaats. Gedurende deze tweede proefperiode ontvingen de dieren uitsluitend gras. De eerste week werd er echter niet meer dan ca. 7,5 kg d.s. per dag van opgenomen; maar na de eerste week was het bevredigend, nl. 11 à 12 kg. Dit gras werd elke dag te omstreeks 12 uur gemaaid; aan de bemonstering werd bijzondere zorg gegeven.

Wederom werden de mest en de urine dagelijks gewogen, terwijl éénmaal in de twee of drie dagen van de mest en de urine van één etmaal monsters voor de analyses werden genomen. Van de 8 mestmonsters werden ultrafiltraten bereid. Gedurende deze periode werd de melk op regelmatige tijden bemonsterd, terwijl het bloed drie malen werd onderzocht.

Uitkomsten

Voor de gehalten der mineralen in voedsel, mest en ultrafiltraten verwijzen wij naar tabel 5, voor de opgenomen en afgegeven gewichtshoeveelheden naar tabel 6. Voorts vindt men in fig. 1 de hoeveelheden der per etmaal in de mest afgegeven niet-ultrafiltreerbare en wel-ultrafiltreerbare mineralen als de gearceerde en niet gearceerde gedeelten der kolommen. Alle cijfers, betrekking hebbende op mest en urine, zijn gemiddelden van twee of meer etmalen.

Van het *natrium* was de uitscheiding gering, zowel die met de urine als die met de mest. In het mest-ultraf filtraat werd enige malen zelfs minder dan 5 meq per l gevonden, hetgeen slechts 1/28 deel is van dat in het bloedplasma. Hieruit blijkt, dat de resorptie van het Na in de darm plaats heeft tegen een aanzienlijke concentratiegradiënt in, zoals al eerder door VAN WEERDEN (1959) en door RENKEMA et al. (1962) was aangetoond. Ongeveer 90% van al het Na in de mest was ultrafiltreerbaar.

Bij het *kalium* was de uitscheiding met de mest aanzienlijk groter dan voor het natrium. Ongeveer 85% daarvan ging in het ultraf filtraat, dat meestal om en bij 40 meq per l bevatte, d.i. ca. 10 maal zo veel als werd gevonden in het bloedplasma, nl. ongeveer 4 meq per l.

De totale hoeveelheid K in de mest bedroeg ca. 45 g per dag, die in de urine ongeveer 250 g tijdens de eerste proefperiode en zij steeg zelfs tot meer dan 300 g in de tweede proefperiode.

Van het opgenomen *calcium* werd ongeveer 75% in de mest uitgescheiden. Van de gehele hoeveelheid calcium in de mest was op het winterrantsoen 20 tot 25% ultrafiltreerbaar, op het grasrantsoen maar ruim 10%, een aanzienlijk verschil dus. De gehalten in de ultrafiltraten waren op het winterrantsoen 4 à 5 maal zo hoog als die in het bloedplasma, op het grasrantsoen slechts 2 à 3 maal zo hoog.

Van het toegediende *magnesium* werd 85% in de mest teruggevonden, zowel op het winterrantsoen als op het grasrantsoen. Van deze 85% was op het winterrantsoen ongeveer 50% ultrafiltreerbaar en op het grasrantsoen maar 25%, wederom dus een belangrijk verschil, evenals bij het calcium. In de ultrafiltraten schommelden de gehalten tijdens de eerste proefperiode (winterrantsoen)

TABEL 5. De gehalten aan Na, K, Ca, Mg en P in de rantsoenen en in de verse mest en ultrafiltraat (u.f.) uit mest van Betsy 2 en Witschoft 5, die achtereenvolgens een winterrantsoen en een grasrantsoen kregen. Het ultrafiltreerbare (u.f.b.) gedeelte van de mineralen is uitgedrukt in procenten van de totale hoeveelheid in de mest. Het winterrantsoen bestond uit hooi, koek en pulp.

	rantsoenen (% in droge stof)					mest						
	Na	K	Ca	Mg	P	aant. etm.	kg/dag	d.s.(%)	pH u.f.	Na		
										verse mest (meq/ kg)	u.f. (meq/l)	% u.f.b.
BETSY 2												
<i>winterrantsoen</i>												
2.4.62-20.4.62	0,24	2,35	0,50	0,20	0,35	7	30,41	13,90	6,9	9,1	9,1	87
<i>grasrantsoen</i>												
1.5.62- 7.5.62	0,23	3,02	0,57	0,24	0,42	2	11,24	13,68	6,6	10,0	11,4	96
7.5.62-14.5.62	0,24	3,03	0,54	0,24	0,46	3	14,08	12,88	6,9	6,8	6,4	83
14.5.62-21.5.62	0,09	3,12	0,43	0,19	0,43	3	22,47	12,87	6,7	4,5	4,1	79
gewogen gemiddelde							16,52	13,08	6,7	6,7	6,8	84
WITSCHOFT 5												
<i>winterrantsoen</i>												
2.4.62-20.4.62	0,24	2,39	0,49	0,20	0,37	7	36,15	11,50	6,9	19,3	21,3	97
<i>grasrantsoen</i>												
1.5.62- 7.5.62	0,23	3,02	0,57	0,24	0,42	2	17,36	9,96	6,9	38,9	39,1	96
7.5.62-14.5.62	0,24	3,03	0,54	0,24	0,46	3	22,65	8,70	6,8	14,5	15,8	98
14.5.62-21.5.62	0,09	3,12	0,43	0,19	0,43	3	31,36	9,03	6,8	9,4	9,5	89
gewogen gemiddelde							24,60	9,14	6,8	18,7	19,3	94

TABEL 6. De hoeveelheden van enkele minerale bestanddelen in het voedsel en in de mest en de urine van Betsy 2 en Witschoft 5 gedurende de winterrantsoenperiode en in de eerste, tweede en derde week van de grasperiode.

		in voedsel (g per dag)				
		Na	K	Ca	Mg	P
BETSY 2						
winterrantsoen	2.4.62-20.4.62	35,7	345,0	72,9	29,6	51,8
grasrantsoen	1.5.62- 7.5.62	17,8	234,6	44,2	18,3	31,6
	7.5.62-14.5.62	27,6	346,3	61,0	26,8	53,4
	14.5.62-21.5.62	12,6	422,6	57,9	25,6	58,7
WITSCHOFT 5						
winterrantsoen	2.4.62-20.4.62	33,6	330,3	68,1	28,0	51,2
grasrantsoen	1.5.62- 7.5.62	18,3	243,6	45,1	18,2	32,5
	7.5.62-14.5.62	25,3	322,7	56,8	24,7	49,6
	14.5.62-21.5.62	11,9	396,5	54,5	24,0	55,1

Contents of Na, K, Ca, Mg and P in the rations and in the fresh feces and ultrafiltrates (u.f.) from feces of Betsy 2 and Witschoft 5, who were successively given a winterration (hay, cake and pulp) and a grassration. The ultrafiltrable fractions (u.f.b.) of the minerals are expressed as percentages of the total amounts present in the feces.

mest											
K			Ca			Mg			P		
verse mest (meq/kg)	u.f. (meq/l)	% u.f.b.	verse mest (meq/kg)	u.f. (meq/l)	% u.f.b.	verse mest (meq/kg)	u.f. (meq/l)	% u.f.b.	verse mest (mmol/kg)	u.f. (mmol/l)	% u.f.b.
40,3	39,0	84	92,9	22,7	21	65,3	38,7	48	36,1	5,7	14
44,0	42,4	83	132,8	10,6	6	115,4	29,0	22	76,2	11,6	14
54,3	48,8	78	124,6	14,9	10	121,6	32,5	23	66,3	7,1	4
56,7	50,8	78	108,0	11,0	9	89,7	27,1	26	62,1	9,2	13
52,6	47,9	80	120,4	12,4	9	108,1	29,6	24	67,2	9,0	10
34,1	34,0	88	76,7	20,5	24	56,8	32,3	50	28,0	6,5	21
33,4	31,2	89	77,2	9,5	12	68,6	16,1	21	44,1	3,8	8
43,0	40,8	87	88,1	13,2	14	75,7	25,8	31	43,8	2,8	6
57,4	54,3	86	74,1	10,1	12	58,3	14,6	23	41,1	5,7	13
46,0	43,5	87	80,1	11,1	13	67,4	19,2	26	42,9	4,1	9

Amounts of several minerals in the ration, feces and urine of Betsy 2 and Witschoft 5 during feeding of the winterration and in the first, second and third week of the grassperiod.

Quantal etmalen	in mest (g per dag)					in urine (g per dag)				
	Na	K	Ca	Mg	P	Na	K	Ca	Mg	P
7	6,4	48,0	56,6	24,2	34,0	18,4	271,9	0,3	3,3	0,2
2	2,6	19,4	29,9	15,8	26,5	30,3	134,3	0,2	0,5	0,2
3	2,2	29,9	35,2	20,9	28,9	20,7	305,4	1,0	0,9	0,5
3	2,4	49,9	48,7	24,6	43,3	9,5	316,4	1,2	1,8	0,2
7	16,1	48,3	55,6	25,0	31,4	12,0	225,0	0,4	2,6	0,3
2	15,6	22,7	26,9	14,5	23,7	15,8	153,8	0,2	0,8	1,7
3	7,6	38,1	40,0	20,9	30,8	12,4	248,5	0,7	1,7	1,1
3	6,8	70,5	46,6	22,3	39,9	6,9	326,7	1,1	2,3	0,4

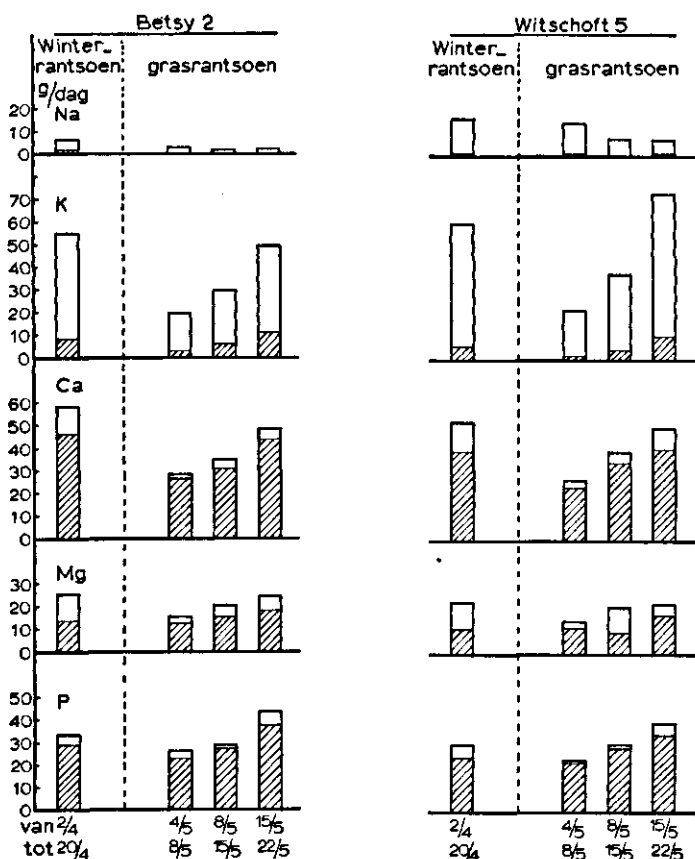


FIG. 1. De hoeveelheden der mineralen Na, K, Ca, Mg en P, die door de proefkoeien achter-eenvolgens op een winterrantsoen en in de eerste, de tweede en de derde week na de overgang op gras, gemiddeld per dag met de mest werden uitgescheiden. De niet-ultrafiltrerbare en de ultrafiltrerbare fracties zijn aangegeven als de gearceerde en de niet-gearceerde gedeelten der kolommen (steeds grammen per etmaal).

The average daily fecal excretion of Na, K, Mg, Ca and P, of the experimental cows on a winterrantsoen and in the first, second and third week after the change over to grass. The hatched parts of the columns represent the non-ultrafiltrable fractions of the minerals.

tussen 30 en 40 (gemiddeld 35) meq per l en in de tweede proefperiode (grasrantsoen) meestal tussen 15 en 30 (gemiddeld 25) meq per l. Het eerste gehalte is ongeveer 20 maal zo hoog, het tweede ongeveer 15 maal zo hoog als normaal in het bloedplasma voorkomt.

Met de urine werd op het winterrantsoen ca. 3 g Mg per dag uitgescheiden en op het grasrantsoen gedurende de eerste week, toen weinig gras werd gegeten, maar 0,65 g, later ca. 2 g, dus steeds minder dan op het winterrantsoen. Met de laagste waarde ging een daling van het bloedmagnesium gepaard: op het winterrantsoen was het gehalte ca. 2,1 mg per 100 ml bloedserum, op het gras-

rantsoen aanvankelijk 1,36 mg%; maar later in de grasperiode was het weer normaal (2,17 mg%).

De *fosfor* sloot zich wat het schijnbaar niet verteerde betreft, bij het Ca en Mg aan; van het gevoederde werd gemiddeld 66% in de mest teruggevonden, op het winterrantsoen was het iets minder dan op het grasrantsoen (64 tegen 69%). Ofschoon de in totaal opgenomen hoeveelheden P in de twee proefperiodes niet veel verschilden, was het gehalte aan P in de verse, ongedroogde mest op het grasrantsoen aanmerkelijk hoger dan op het winterrantsoen. Daarentegen was het percentage aan ultrafiltreerbaar P, betrokken op de totale hoeveelheid P in de mest, op het grasrantsoen aanmerkelijk lager: bij Betsy 2 nl. 10 tegen 14%, bij Witschoft 5 was het 9 tegen 21%. Het aantal mmol fosfaat per l ultrafiltraat was ongeveer gelijk, nl. gemiddeld 6,6 op grasrantsoen en 6,1 op winterrantsoen.

3.1.1.2 Proef met Betsy en Lionne op een bijzonder rantsoen ('kopziekterantsoen')

De directe aanleiding tot deze proef was gelegen in enige gevallen van hypomagnesaemie tijdens de winterperiode bij melkkoeien op de boerderij van het laboratorium; bij één der dieren leidde dit zelfs tot onmiskenbare kopziekte. Daarom werd een proef opgezet om te onderzoeken of de bestanddelen van het rantsoen, dat toen werd gevoerd – hooi en kuilgras – de ultrafiltreerbaarheid van het Mg in de mest wellicht zouden drukken.

De *proefkoeien*, Betsy en Lionne, waren 6 jaar oud en gaven bij de aanvang der proef 16 kg melk. De dieren stonden naast elkaar in de grote stal en waren van urinalen voorzien om de mest en de urine gescheiden op te vangen.

Voordat het eigenlijke proefrantsoen werd verstrekt, werden van de mest en de urine van vier etmalen, verdeeld over een periode van twee weken, monsters genomen voor de analyse en, wat de mest betreft, ook voor het maken van ultrafiltraten. Bovendien werd het bloed onderzocht. De koeien ontvingen het toen ter beschikking staande voeder, dat bestond uit ca. 7 kg hooi, ca. 15 kg kuilgras, 4 kg krachtvoer (A-brokken) en 2,5 kg gedroogde bietenpulp. Dit rantsoen, verder aan te duiden met *stalarantsoen*, werd niet geanalyseerd.

De analyseuitkomsten van de mest- en urinemonsters, die op dit *stalarantsoen* werden verkregen, zijn gebruikt als controles voor de uitkomsten, die zijn verkregen toen het eigenlijke proefrantsoen werd gevoerd.

Na deze voorproef volgde van 5-3-1963 af de eigenlijke proef, waarin het proefrantsoen werd verstrekt. Dit bestond uit 7 kg hooi, 20 kg kuilgras en 2,5 kg B-brokken per dag (tabel 7). Het hooi en het kuilgras waren hetzelfde als waarop kopziekte was waargenomen. Het krachtvoer werd gegeven teneinde het rantsoen in overeenstemming te brengen met de behoefte van de dieren. Hoewel derhalve dit proefrantsoen niet geheel gelijk was aan het rantsoen dat aanleiding had gegeven tot kopziekte, is het niettemin met *kopziekterantsoen* aangeduid.

Ook gedurende deze periode verbleven de dieren in de grote stal. Nadat gedurende 20 dagen het kopziekterantsoen als enig voedsel was verstrekt, werden gedurende 8 dagen monsters genomen van de urine van elke proefdag – van

TABEL 7. De gehalten aan enkele minerale bestanddelen in het voeder en in de mest van Betsy en Lionne op een proefrantsoen, bestaande uit 7 kg hooi, 20 kg kuilgras en 2,5 kg B-brokken en de gehalten aan Ca, Mg en fosfaat in de mest en in ultrafiltraat (u.f.) uit de mest van de koeien toen deze een stalrantsoen kregen, dat bestond uit 7 kg hooi, 15 kg kuilgras, 4 kg A-brokken en 2,5 kg gedroogde bietenpulp. Het ultrafiltreerbare (u.f.b.) gedeelte der mineralen is uitgedrukt in procenten van de totale hoeveelheden. Verder zijn de hoeveelheden van enkele mineralen in de urine vermeld in g per dag.

		rantsoen (% in de droge stof)					mest			
		rantsoen kg d.s. per dag	Na	K	Ca	Mg	P	kg per dag	d.s. (%)	pH
<hr/>										
BETSY										
stalrantsoen	tot 7-3-'63								11,47	6,9
proefrantsoen	7-3- tot 2-4-'63	12,4	0,22	2,48	0,51	0,16	0,45	24,5	16,50	6,6
 LIONNE										
stalrantsoen	tot 7-3-'63								14,37	6,8
proefrantsoen	7-3- tot 2-4-'63	12,4	0,22	2,48	0,51	0,16	0,45	22,5	16,22	6,7

's morgens 9.30 uur tot de volgende morgen 9.30 uur – en deze monsters werden na aanzuren met HCl te zamen in een fles bij 5°C bewaard tot de analyse. De per etmaal samengevoegde, gewogen en gemengde mest werd gedurende de proefperiode vier maal en wel om de andere dag bemonsterd. De monsters werden gebruikt voor analyse en ultrafiltratie.

Uitkomsten

De analyse van het kopziektterantsoen is weergegeven in tabel 7; de bestanddelen van het stalrantsoen zijn, zoals gezegd, niet geanalyseerd. In tabel 7 vindt men ook de hoeveelheden der mineralen die gemiddeld per dag in de urine werden afgegeven, en voorts de gemiddelden die betrekking hebben op de samenstelling van de mest en de ultrafiltraten daarvan.

Ook hier werd het overgrote deel van het Ca, het Mg en de P in de mest afgegeven.

Van deze totale hoeveelheden in de mest was bij het *calcium* gemiddeld 22,5% ultrafiltreerbaar op het stalrantsoen en maar 8,5% op het kopziektterantsoen. Het aantal meq Ca per l ultrafiltraat bedroeg achtereenvolgens 26 en 10, d.w.z. op het kopziektterantsoen aanzienlijk minder dan op het stalrantsoen.

Bij het *magnesium* deed zich een overeenkomstig verschil voor. Hier waren op het stalrantsoen en het kopziektterantsoen achtereenvolgens gemiddeld 58 en 26% van al het Mg in de mest ultrafiltreerbaar, terwijl de ultrafiltraten gemiddeld 47 en 24 meq Mg per l bevatten.

Bij de *fosfor* was het juist omgekeerd. Hier waren de percentages, die van het totaal aan P in de mest ultrafiltreerbaar waren, achtereenvolgens gemiddeld 8,0 en 12,5 en de gehalten per l ultrafiltraat 3,8 en 8,2 mmol. Het is intussen mogelijk dat de pH, die op het kopziektterantsoen 0,3 en 0,1 eenheden lager was dan die op het stalrantsoen, tot dit verschil heeft bijgedragen.

Mineral contents in fodder and feces of the cows Betsy 2 and Lionne on an experimental ration of 7 kg hay, 20 kg silage and 2,5 kg cake and the contents of Ca, Mg and P in feces and in ultrafiltrates of feces during feeding of a stallration composed of 7 kg hay, 15 kg silage, 4 kg cake and 2,5 kg dried pulp. The ultrafiltrable fractions of the minerals are expressed in percentages of the total amounts. The amounts (g/day) of some minerals in the urine are also given.

mest (gemiddelden van 4 monsters)									urine (g per dag)			
Ca			Mg			P			Na	K	Ca	Mg
verse mest (meq/kg)	u.f. (meq/l)	% u.f.b.	verse mest (meq/kg)	u.f. (meq/l)	% u.f.b.	verse mest (mmol/kg)	u.f. (mmol/l)	% u.f.b.				
93,7	28,1	27	62,5	45,8	65	36,4	3,8	9	25,6	175,8	0,34	2,20
102,7	10,8	9	76,8	24,3	26	55,8	9,1	14	11,7	205,4	0,73	0,37
116,3	23,8	18	78,1	47,8	52	47,1	3,7	7	21,8	141,1	0,36	2,78
99,5	9,5	8	77,0	22,7	25	55,8	7,4	11	13,5	172,8	0,75	0,48

De geringe ultrafiltreerbaarheid van het Mg op het kopziekterantsoen weerspiegelde zich in de urine: de Mg-uitscheiding met de urine bedroeg nl. op het stalrantsoen gemiddeld 2,5 g per dag en op het kopziekterantsoen minder dan 0,5 g. Dit is in overeenstemming met de bevindingen van anderen, o.a. van KEMP (1963), die zag dat bij tekort aan Mg in het voedsel de Mg-uitscheiding met de urine tot het uiterste wordt beperkt, waarna daling van het Mg-gehalte in het bloedserum volgt. Tot dit laatste was het bij onze proef echter nog niet gekomen, want het serum-Mg was aan het eind der proef normaal.

Samenvatting der twee voederproeven

In de eerste proef werd een grasrantsoen vergeleken met een winterrantsoen, in de tweede proef een kopziekterantsoen, bestaande uit hooi en kuilgras, waaraan krachtvoer was toegevoegd, met een ander stalrantsoen.

In overeenstemming met de uitkomsten van vroegere onderzoekers werd gevonden, dat het overgrote deel van het opgenomen Ca en Mg en ook van de P met de mest werd uitgescheiden. Het Na en K daarentegen verlieten het lichaam voornamelijk met de urine.

De gehalten aan Ca en Mg per l ultrafiltraat van mest waren op het grasrantsoen (eerste proef) en op het kopziekterantsoen (tweede proef) veel lager dan die op de controlerantsoenen (winterrantsoen en stalrantsoen). De ultrafiltreerbare Ca- en Mg-fracties, uitgedrukt in procenten van de in totaal in de mest aanwezige hoeveelheden dezer metalen, bedroegen op de eerstgenoemde rantsoenen slechts de helft of minder van die op de twee controlerantsoenen.

Bij de P waren de verschillen minder duidelijk. In de meeste gevallen echter waren de P-gehalten per kg mest en per l ultrafiltraat op het gras- en kopziekterantsoen hoger dan op de twee controlerantsoenen. Wellicht werd de resorptie der aardalkaliën daardoor geremd. Hiervoor kan ook worden aangevoerd, dat

de uitscheiding van het Mg met de urine geringer was op het grasrantsoen dan op het winterrantsoen en op het kopziekerantsoen zelfs veel geringer dan op het stalrantsoen.

Deze proeven versterken ons in het vermoeden, dat lage gehalten aan ultrafiltreerbaar Mg in de mest samengaan met een geringe resorptie van dit element. De oorzaken van de waargenomen grote verschillen in ultrafiltreerbaarheid van het Ca en het Mg in de mest van koeien op diverse rantsoenen konden echter door dit onderzoek niet duidelijk worden blootgelegd.

3.1.2 De toestand van het Ca, het Mg en het fosfaat in de niet-ultrafiltreerbare fractie van de mest

In hoofdstuk 2 van dit proefschrift is reeds aangetoond, dat praktisch al het opgeloste Ca en Mg in de koemest ultrafiltreerbaar is. Over ons onderzoek naar de vorm waarin deze mineralen in het ultraftraat voorkomen, zal verslag worden uitgebracht in 3.5. Thans zullen wij ons verdiepen in de vraag naar de aard der bindingen van het Ca en Mg in de niet-ultrafiltreerbare fractie.

Verdunnen van de mest met gedestilleerd water

Om te onderzoeken of er een verschuiving van het niet-ultrafiltreerbare naar het wel-ultrafiltreerbare Ca, Mg en fosfaat plaats vindt wanneer koemest met water wordt aangelengd, is de volgende proef uitgevoerd.

Een hoeveelheid verse mest werd zorgvuldig gemengd en in vier gelijke delen van 500 g verdeeld. Eén dezer delen werd zonder meer gedroogd voor de bepaling van het vocht en de verschillende mineralen.

Nadat twee der drie overige delen zorgvuldig met 250 ml resp. 500 ml water waren vermengd, werden zij alle drie na 1 à 2 uren staan geultrafiltreerd. De analyses en de hoeveelheden der ultrafiltreerbare bestanddelen per 500 g uitgangsmateriaal zijn weergegeven in tabel 8.

TABEL 8. De gehalten van enkele minerale bestanddelen in mest en in de ultrafiltraten daarvan, zonder en met toevoeging van water, alsmede de totale hoeveelheden der ultrafiltreerbare bestanddelen van 500 g mest vóór en na mengen met water. Het drogestof-gehalte van de mest, vóór het toevoegen van water, was 14,12%.

Mineral contents in feces and in ultrafiltrates of feces before and after addition of water and also the total amounts of ultrafiltrable substances of 500 g feces before and after mixing with water. The dry matter content of the feces before the addition of water was 14,12%.

	verse mest/kg	ultrafiltraten van de			ultrafiltreerbare hoeveelheden in		
		verse mest/l	mest + 250 ml H ₂ O/l	mest + 500 ml H ₂ O/l	500 g mest	500 g mest + 250 ml H ₂ O	500 g mest + 500 ml H ₂ O
Na (meq)	12,6	12,8	7,9	6,4	5,5	5,3	6,0
K (meq)	19,3	18,6	10,9	9,4	7,9	7,4	8,8
Ca (meq)	99,0	24,4	15,6	12,3	10,4	10,5	11,5
Mg (meq)	90,5	44,1	28,0	23,3	18,8	18,9	21,8
fosfaat (mmol)	29,2	2,9	1,7	1,6	1,2	1,2	1,5

Uit de tabel blijkt, dat de ultrafiltreerbare fracties van alle onderzochte mineralen na verdunnen van de mest met 250 ml water gelijk zijn gebleven en na verdunnen met 500 ml water, d.i. een verdunning 1:1, maar weinig zijn toege-
nomen. Er had dus slechts een geringe verschuiving der mineralen van de niet-ultrafiltreerbare naar de ultrafiltreerbare fractie plaats gevonden. Het niet-ultrafiltreerbare Ca, Mg en fosfaat komt derhalve in een moeilijk oplosbare vorm in de mest voor.

Aanzuren van de mest

Een hoeveelheid zorgvuldig gemengde mest van melkkoeien werd in zeven porties van 500 g verdeeld. Eén dezer porties werd zonder meer gedroogd voor de bepaling van vocht, Ca, Mg en fosfaat. Aan vijf der zes andere porties werden van 5 tot 30 ml opklimmende hoeveelheden HCl 18% toegevoegd, waarop na ongeveer twee uren staan bij alle porties de ultrafiltratie door cellofaanpapier volgde. Voor de analyses verwijzen wij naar tabel 9.

Naarmate de mest zuurder werd, stegen de gehalten aan Ca, Mg en fosfaat in de ultrafiltraten. De stijging van de gehalten aan Ca en Mg ging door tot pH = 4. Toen was bijna al het Ca en Mg in ultrafiltreerbare vorm aanwezig. De stijging van de gehalten aan fosfaat hield aanvankelijk gelijke tred met die van de gehalten aan Ca en Mg. Bij pH = 4,8 bereikte het fosfaatgehalte echter zijn maximum; verder aanzuren van de mest tot pH = 3,3 had geen stijging meer ten gevolge. Van de totale hoeveelheid fosfaat in de mest was toen nog ongeveer 25% in niet-ultrafiltreerbare vorm overgebleven.

Het aantal meq Ca en Mg dat door het aanzuren van de mest tot pH = 4,8 in ultrafiltreerbare vorm is gekomen, is ongeveer gelijk aan het aantal meq fosfaat dat tegelijkertijd in oplossing ging, wanneer één PO₄ gelijk aan drie acquiva-

TABEL 9. De gehalten van enkele minerale bestanddelen in de mest en in het ultrafiltraat van de mest vóór en na mengen met verschillende hoeveelheden zoutzuur 18%, alsmede de pH der ultrafiltraten. Het droge-stof-gehalte van de mest was 15,40%.

Mineral contents of feces and of ultrafiltrates of feces before and after mixing with different amounts of HCl 18%, together with the pH of the ultrafiltrates. The dry matter content of the feces was 15,40%.

verse mest		ultrafiltraat van 500 g mest vermengd met 5-30 ml HCl 18%					
	totaal	ultrafiltraat	5 ml	10 ml	12,5 ml	20 ml	30 ml
	meq/kg	meq/l	meq/l	meq/l	meq/l	meq/l	meq/l
Ca	112,7	18,2	37,3	56,0	91,4	123,2	122,2
Mg	80,7	40,4	59,3	69,1	76,8	96,0	94,4
	mmol/kg	mmol/l	mmol/l	mmol/l	mmol/l	mmol/l	mmol/l
fosfaat	47,0	4,3	16,7	32,7	38,3	40,8	40,4
pH		7,0	6,3	5,4	4,8	3,9	3,3

lenten wordt gesteld. Mogelijk waren het Ca en het Mg als tertiair fosfaat in de mest aanwezig. Ongeveer 100 meq, d.i. ca. 50% van al het Ca plus Mg in deze mest zouden aldus kunnen zijn gebonden.

Calcium- en magnesiumcarbonaten in de mest

Op grond van de zwakke waterstofionenconcentratie en het niet te verwaarlozen koolzuurgehalte van de darminhoud en van de mest en voorts uit hoofde van de kleine oplosbaarheidsprodukten van CaCO_3 en MgCO_3 wordt dikwijls verondersteld, dat een deel van het Ca en Mg in darminhoud en in mest als neergeslagen carbonaten aanwezig is.

Om dit te onderzoeken werden in 25 mestmonsters het totaal- CO_2 -gehalte en het CO_2 -gehalte der ultrafiltraten bepaald volgens de methode beschreven in hoofdstuk 2.

De ultrafiltraten werden onder paraffine opgevangen om ontwijken van CO_2 zo goed mogelijk te voorkomen. Onmiddellijk na het vullen van de ultrafiltratie-pers werd van dezelfde mest telkens 10 g in een glazen kolf afgewogen en met een bekende hoeveelheid koolzuurvrij water gemengd, waarna het mengsel op dezelfde wijze op CO_2 werd onderzocht als de ultrafiltraten. Tenslotte werd uit de CO_2 -gehalten en met behulp van het d.s.-gehalte van de mest berekend hoeveel procent van het CO_2 ultrafiltreerbaar was.

Het gemiddelde gehalte aan totaal- CO_2 in de mest bleek overeen te komen met 70,4 meq per kg en hiervan was bij deze 25 monsters gemiddeld $100,8 \pm 1,85\%$ ultrafiltreerbaar. Hieruit kan worden besloten, dat vrijwel al het CO_2 in ultrafiltreerbare vorm in de mest aanwezig was, zodat calcium- en magnesiumcarbonaat in de niet-ultrafiltreerbare fractie praktisch geheel ontbreken.

Calcium- en magnesiumzepen in de mest

Naar het voorkomen van onopgeloste zepen van Ca en Mg in de mest van koeien hebben wij geen onderzoek ingesteld.

Literatuurgegevens over de gehalten aan zepen in de mest van koeien zijn schaars. Door hun bewerkelijkheid leveren de verschillende bepalingsmethoden ook grote moeilijkheden op voor het uitvoeren van serie analyses.

In een verteringsproef met drie koeien, die uitsluitend gras kregen, vond BLOM (1962) in de mest gemiddeld 95 meq hogere vetzuren per kg d.s. Bij 4 koeien, die in een balansproef waren opgenomen en die naast gras per dag nog ongeveer 1,5 kg krachtvoer kregen, vonden IMMINK et al. (1965) gemiddeld 146 meq vetzuur per kg d.s. in de mest. Er werd in deze onderzoeken niet aangegeven, welk gedeelte van de vetzuren in de mest daarin als zepen van Ca en Mg aanwezig waren.

In de mest van koeien op een winterrantsoen werden door DEYS et al. (1963) slechts kleine hoeveelheden hogere vetzuren gevonden, nl. gemiddeld 81 meq per kg d.s., waarvan nog 33 meq vrije vetzuren bleken te zijn. In deze mestmonsters, 12 in getal, werden per kg d.s. derhalve $81 - 33 = 48$ meq zepen van Ca en Mg gevonden. Plaatsen wij deze 48 meq naast de 1000 tot 1500 meq Ca + Mg, die naar schatting in dezelfde mest per kg d.s. aanwezig waren, dan is het

duidelijk, dat slechts een onbelangrijk gedeelte van het Ca en het Mg daarin als zepen voorkomen.

In gras kan het gehalte aan hogere vetzuren aanzienlijk zijn. BROUWER (1943) vond een duidelijk verband tussen het groeistadium en het vetzuurgehalte van gras. De hoeveelheid dezer zuren bleek af te nemen van gemiddeld 3,65% bij zeer kort gras van omstreeks midden april, tot 1,62% voor uitgegroeid gras omstreeks eind juni. Tegelijkertijd daalde het ruw-eiwit-gehalte van het gras van 22,8 tot 8,7% in de d.s. Een positieve correlatie tussen het ruw-eiwit-gehalte van gras en het gehalte aan hogere vetzuren werd ook gevonden door IMMINK et al. (1965).

Gras met een ruw-eiwit-gehalte van 30% in de d.s. zou een vetzuurgehalte van ongeveer 220 meq per kg d.s. hebben. Wanneer de schijnbare verteringscoëfficiënt van de d.s. en van de vetzuren 75 is, dan zullen in de mest per kg d.s. eveneens ongeveer 220 meq vetzuur voorkomen. Daardoor zou tot ongeveer 20% van het Ca en het Mg gebonden kunnen zijn. Het is echter niet waarschijnlijk, dat al het vetzuur in de mest aan Ca en Mg is gebonden. Niettemin blijkt uit een en ander dat, wanneer gras met een hoog vetzuurgehalte wordt verstrekt, een niet onbelangrijk gedeelte van het Ca en het Mg als zepen in de mest van koeien kan voorkomen.

Adsorptie van alkali- en aardalkali-ionen aan gedroogde mest

In het voorgaande werd gevonden, dat het niet-ultrafilterbare Ca en Mg in de mest niet aan CO_2 en slechts voor een deel aan fosforzuur en vetzuur kunnen zijn gebonden.

Daarom rees de vraag of wellicht uitkomst zou kunnen worden geboden door het mengsel van cellulose en aanverwante stoffen, die in de voedermiddelen voorkomen (zie hierover GAILLARD, 1954) en die de eigenschap bezitten aan hun OH- en COOH-groepen kationen te kunnen adsorberen of binden. Weliswaar wordt de cellulose van het ruwvoeder in de voormagen der herkauwers voor een deel afgebroken; maar niettemin bestaat nog ongeveer 8% van de droge stof in gewone koemest uit cellulose (persoonlijke mededeling dr. B. D. E. GAILLARD). Bovendien is het niet onwaarschijnlijk dat er ook nog andere stoffen met actieve groepen in voorkomen.

Evenals bij een ionenwisselaar kunnen aan deze 'polaire groepen' metaal-ionen worden gebonden. Door wassen met verdund zuur worden deze groepen echter in de H-vorm omgezet. Brengt men het aldus behandelde materiaal in een neutrale of zwak alkalische oplossing van alkali- en (of) aardalkalizouten, dan worden de H-ionen geheel of gedeeltelijk tegen de ionen van deze oplossing uitgewisseld. Tweewaardige ionen zijn in het algemeen actiever dan eenwaardige.

Voor onze bepalingen van het adsorptievermogen werd telkens 3 g gedroogde en gemalen mest afgewogen in een bekersglas en overgoten met 25 ml HCl 6%. Na ongeveer een uur werd deze zure mestsuspensie gefiltreerd in een buis met een ingebouwd glasfilter (G2) en nagewassen met 25 ml 6% HCl. Vervolgens werd het zoutzuur weggewassen met vijf porties van ongeveer 15 ml gedestilleerd water. Het bleek dat de aldus behandelde mest geen Ca en Mg meer bevatte. Op

vier porties van de aldus behandelde mest werd bovendien een etherextractie toegepast (SOXHLET). Over de gewassen en al of niet met ether geëxtraheerde mestbestanddelen werd bij scheuten 500 ml van een proefoplossing gegoten, waarvan de gehalten aan Ca, Mg, Na en K (chloriden) gelijk waren aan die in de ultrafiltraten van dezelfde mest. Om daling van de pH als gevolg van de uitwisseling van H-ionen tegen metaalionen uit de oplossing te voorkomen, werd een $\text{NH}_4\text{OH-NH}_4\text{Cl}$ -buffer met $\text{pH} = 8,2$ toegevoegd. Er werd echter slechts zó veel van de bufferoplossing gebruikt als nodig was om de pH hoger dan 6 te houden. Nadat het materiaal enkele uren met de proefoplossing in aanraking was geweest, werd opnieuw met gedestilleerd water gewassen. Daarna werden de metaalionen van de mestvezels losgemaakt met een verdunde zoutzuuroplossing en het eluaat werd verzameld in een kolf van 100 ml om geanalyseerd te worden.

In tabel 10 zijn de uitkomsten van enkele proeven vermeld. De mest van 13-4-1966 en van 30-4-1966 is, behalve met proefoplossingen waarin de gehalten aan de kationen gelijk waren aan die in het ultrafiltraat, ook nog behandeld met oplossingen die twee maal zo geconcentreerd waren. Bovendien zijn deze mestmonsters, evenals die van 2-4-1964 en van 9-12-1963, met proefoplossingen behandeld, nadat de etherextraheerbare bestanddelen daaruit verwijderd waren.

De som van de metaalionen die uit de proefoplossingen aan 3 g gedroogde en daarna met zuur metaalvrij gemaakte mest werden vastgelegd, was bij deze proeven steeds ongeveer gelijk, ondanks de soms grote verschillen in concentratie en in onderlinge verhouding der kationen in de proefoplossingen. Echter vonden wij dat na het verwijderen van de in ether oplosbare bestanddelen uit de mest, minder van de kationen werd vastgehouden dan vóór de etherextractie. Voor het

TABEL 10. Binding van Na, K, Ca en Mg aan gedroogde en daarna met zoutzuur metaalvrij gemaakte mest.
Binding of Na, K, Ca and Mg by cow-feces, which previously had been dried and washed with HCl 6%, without and with etherextraction.

monster	proefoplossing meq/l				eluaat van 3 g gedroogde en voorbehandelde mest (meq/l)				adsorptie per 100 g d.s. (meq)				adsorptie in % van de totale gehalten	
	Na	K	Ca	Mg	Na	K	Ca	Mg	Na	K	Ca	Mg	Ca	Mg
zonder etherextractie														
9-12-'63	14	22	24	31	0,30	0,54	6,28	4,61	1,05	1,93	22,42	16,46	37,6	38,4
30- 4-'64	20	21	21	32	0,26	0,63	5,82	4,91	0,93	2,25	20,78	17,53	28,8	35,0
13- 4-'66	15	45	20	30	0,20	0,71	5,94	5,18	0,71	2,53	21,21	18,49	35,4	42,3
2- 4-'64	25	25	17	28	0,42	0,62	5,00	4,53	1,49	2,21	17,83	16,17	25,6	41,8
13- 4-'66	30	90	40	60	0,16	0,61	6,00	5,58	0,57	2,18	21,42	19,92	35,8	45,6
30- 4-'64	40	42	42	64	0,17	0,28	6,10	5,16	0,61	1,00	21,78	18,42	30,2	36,8
na etherextractie														
30- 4-'64	20	21	21	32	0,16	0,48	4,09	4,08	0,57	1,71	14,60	14,57	20,2	29,1
13- 4-'66	15	45	20	30	0,13	0,41	4,24	4,04	0,46	1,46	15,14	14,42	25,3	33,0
2- 4-'64	25	25	17	28	0,25	0,36	4,56	3,69	0,89	1,28	16,30	13,17	23,4	34,1
9-12-'63	14	22	24	31	0,12	0,33	4,61	3,56	0,43	1,18	16,46	12,71	27,6	29,6

Ca bedroeg deze vermindering ongeveer 25%; voor het Mg ongeveer 20%. Waarschijnlijk waren in de met zuur aardalkalivrij gemaakte mest nog hogere vetzuren aanwezig, die met het Ca en Mg uit de neutrale proefoplossingen zeep hebben gevormd. Verreweg het grootste deel van de gebonden mineralen was echter naar alle waarschijnlijkheid aan de vezeldeeltjes geadsorbeerd.

Ook bleek bij onze proeven de affiniteit van de vezeldeeltjes voor Ca veel groter te zijn dan die voor Mg, terwijl van de twee alkalimetalen slechts zeer geringe hoeveelheden werden vastgehouden. Voorts vonden wij dat de onderlinge verhouding der gebonden ionen sterk afhankelijk was van de onderlinge verhouding van het Ca en het Mg in de proefoplossingen.

Omtrent de binding van mineralen aan onverteerde voedseldeeltjes uit lebmaaginhoud van schapen is een onderzoek ingesteld door STORRY (1961b). Hij berekende dat er 22 meq Ca en 9,4 meq Mg na verhogen van de pH tot 7,5 aan 100 g d.s. in de ongedroogde lebmaaginhoud waren gebonden uit een proefoplossing met 11,8 meq Ca en 8,6 meq Mg per l. Werd de lebmaaginhoud gedroogd en gemalen alvorens de adsorptieproeven te verrichten, dan werd evenveel van de aardalkalimetalen gebonden als in het 'verse' materiaal. Daaruit blijkt, dat het drogen en malen ten hoogste een geringe verandering van het adsorptievermogen ten gevolge had.

Zoals gezegd werkte STORRY niet met darminhoud, maar met lebmaaginhoud. Het lijkt ons echter onwaarschijnlijk, dat zich daarbij principiële verschillen zullen voordoen. Hierop wijst ook het feit, dat de hoeveelheid der geadsorbeerde aardalkaliën bij hem van dezelfde orde was als die bij onze proeven met mest: bij ons ongeveer 29,3 meq Ca + Mg per 100 g d.s. en bij STORRY 31,4 meq.

Wanneer de adsorptie in de verse mest inderdaad slechts weinig verschilt van die in de gedroogde, hetgeen wij op grond van het bovenstaande waarschijnlijk achten, dan is blijkens de laatste twee kolommen van tabel 10 een belangrijk deel van het Ca en Mg in mest en wellicht ook in de darminhoud geadsorbeerd; bij onze proeven was dit ongeveer 25 tot 30%. Verder is nog een deel op andere wijze gebonden, d.w.z. als fosfaten en ook nog in andere verbindingen.

Uit de proeven van STORRY (1961b), alsmede uit die van SMITH en MCALLEN (1966), bleek, dat Ca- en Mg-fosfaten precipiteerden, wanneer de pH waarden bereikte van 6,5 en hoger. Binding van de aardalkalimetalen aan andere bestanddelen van de chymus dan fosfaat had echter reeds plaats bij een pH = 5 en bleek bij pH = 6 al ongeveer maximaal te zijn. Omdat de pH reeds in het eerste vierde gedeelte van de dunne darm waarden van 5 à 6 bereikt, zal bij herkauwers in dat darmgedeelte adsorptie van Ca en Mg optreden, hetgeen nadelig zal zijn voor de resorptie van die elementen. Wellicht verklaart dat, althans ten dele, waarom de behoefte aan Mg bij herkauwers groter is dan bij niet-herkauwers.

Dat de ultrafilterbaarheid van het Ca en daardoor de resorptie van dit element beïnvloed wordt door de onverteerde ruwe celstof in het rantsoen vindt enige steun in de waarneming van SJOLLEMA (1923), dat een verhoging van het ruwe-celstof-gehalte van het rantsoen van een konijn gepaard ging met een stijging van de Ca-uitscheiding met de mest.

Samenvatting

In de niet-ultrafiltreerbare fractie van de mest van koeien bleken het Ca, het Mg en het fosfaat bijna geheel in onopgeloste vorm voor te komen. Praktisch al het Ca en Mg ging echter in oplossing na aanzuren van de mest met zoutzuur tot de pH ongeveer 4 was; van de P bleef daarbij nog een kwart in onopgeloste vorm achter.

Er werden aanwijzingen verkregen dat een gedeelte van het Ca en het Mg in de mest in de vorm van fosfaten voorkomt. Op deze wijze zou ongeveer 50% van het Ca + Mg kunnen zijn gebonden. Echter moeten er ook nog andere verbindingen van deze metalen in de niet-ultrafiltreerbare fractie bestaan. Zo is er meestal minder fosfaat aanwezig dan nodig zou zijn om al het niet-ultrafiltreerbare Ca en Mg te binden, zelfs wanneer aangenomen wordt dat de P uitsluitend als driewaardig aardalkalifosfaat zou voorkomen.

Allereerst bleek dat deze andere verbindingen niet uit carbonaten bestaan.

Al kunnen bij het verstrekken van grote hoeveelheden extra vet aan koeien ongetwijfeld belangrijke hoeveelheden zepen van Ca en wellicht ook van Mg in de mest worden verwacht, toch menen wij dat op normale rantsoenen slechts betrekkelijk kleine gedeeltes van het Ca en Mg in de vorm van zepen met de mest worden uitgescheiden.

Er werd evenwel aangetoond, dat de gedroogde en gemalen en daarna met behulp van zoutzuur aardalkalivrij gemaakte mest een sterk adsorptievermogen voor Ca en Mg bezit.

Uit onze proeven bleek, dat 25 tot 30% van het Ca en Mg in de mest aan de onverteerde voedselresten geadsorbeerd kon worden.

De adsorptie van Ca en Mg aan chymusbestanddelen bij herkauwers verklaart, althans ten dele, waarom de behoefte aan Mg bij deze dieren groter is dan bij laboratoriumdieren.

3.2 DE VERDELING VAN DE MINERALEN OVER DE ULTRAFILTREERBARE EN DE NIET-ULTRAFILTREERBARE FRACTIE VAN DE INHOUD UIT DE BLINDE DARM EN DE MEST VAN KOEIEN OP VERSCHILLENDE RANTSOENEN

Omdat de resorptie van Ca en Mg vooral plaatsvindt in de dunne darm, ging onze belangstelling vooral naar dit darmgedeelte uit. Voorts was het voor de studie van de invloed der rantsoenen op de toestand der mineralen in de darm nodig de inhoud daarvan bij éénzelfde dier van tijd tot tijd te onderzoeken en daarom was het nodig over dieren met darmfistels, liefst dunne-darm-fistels, te beschikken.

Daar er echter nog weinig ervaring bestaat over het plaatsen van fistels in de dunne darm van koeien, hebben wij ons in eerste instantie beperkt tot het doen aanleggen van fistels in de pens en in de blinde darm. De operatieve ingrepen werden met grote welwillendheid en met goed gevolg bij twee melkkoeien uitgevoerd door prof. dr. S. R. NUMANS en zijn medewerkers aan de Kliniek voor Veterinaire Heelkunde te Utrecht. Wij zeggen hun hiervoor op deze plaats hartelijk dank.

Na het herstel van de proefkoeien, verder aan te duiden met fistelkoeien, is met deze dieren een serie voederproeven uitgevoerd. Deze waren ten dele een herhaling van die welke wij onder 3.1.1 hebben beschreven. Behalve de toestand van de mineralen in de mest, kon nu ook de toestand van de mineralen in de blinde darm worden onderzocht.

De proefkoeien

Onze eerste proefkoe, Maartje, was zes maanden drachtig en produceerde nog ongeveer 10 kg melk per dag. Zij werd aan de Kliniek voor Veterinaire Heelkunde in november 1963 geopereerd voor het plaatsen van een pens- en een blinde-darm-fistel. Na de operatie at ze aanvankelijk goed; maar de tiende dag weigerde zij voedsel op te nemen. Zij werd ernstig ziek en aborteerde. Een onderzoek aan de Kliniek voor Inwendige Ziekten toonde aan, dat de koe een ernstige lebmaagdislocatie naar rechts had. Na vasten herstelde het dier en kon veertien dagen later naar het Laboratorium voor Fysiologie der Dieren te Wageningen worden vervoerd. Daar bleef het nog geruime tijd sukkelen; maar na 15 februari konden wij met Maartje proeven nemen. Na de eerste proef kreeg het dier wederom een lebmaagdislocatie. Ook deze keer herstelde dit zich na ruim een week vasten. Gedurende drie weken na het herstel werden geen proeven met deze koe genomen.

Na de moeilijkheden met Maartje werd een tweede koe, Lionne, voor het plaatsen van een pens- en een blinde-darm-fistel aan de Kliniek voor Heelkunde aangeboden. Lionne had – het was toen inmiddels half maart – twee weken tevoren gekalfd. Haar dagproductie bedroeg 21 kg melk. Veertien dagen na de operatie, die zonder moeilijkheden verliep, gaf zij weer ruim 20 kg melk. Van 15 april af konden wij deze koe als proefdier gebruiken.

Methoden

Voor het onttrekken van darminhoud aan de blinde darm werd een polyvinylchloride-slang (ca. 9 mm inwendige doorsnede) via de darmfistel in de blinde darm gebracht. De slang was aangesloten aan een kunststoffles, waarin een matige onderdruk werd onderhouden, zodat de darminhoud in de fles werd gezogen.

Stonden de koeien gedurende de proeven in de proefstal van het laboratorium, dan werden de mest en de urine gescheiden opgevangen. Van de mest van elke proefdag – van 9.30 uur tot 9.30 uur – werd na mengen een monster genomen. Liepen de koeien daarentegen in de weide, dan werden van een zo groot mogelijk aantal verse mestplakken hoeveelheden van ca. 200 g per plak verzameld. Na mengen van de verzamelde mest werd een dagmonster genomen. Van deze monsters en ook van de blinde-darm-inhoud werden ultrafiltraten gemaakt, terwijl een gedeelte van de monsters bij ca. 60°C gedurende 48 tot 72 uren werd gedroogd.

In de ultrafiltraten en in de gedroogde mest en darminhoud, alsmede in de bestanddelen van de rantsoenen, zijn de gehalten aan Na, K, Ca, Mg en fosfaat bepaald. Mest, darminhoud en rantsoenbestanddelen werden vooraf bij 500°C

gedurende 3 uren verast. In de gedroogde mest en darminhoud zijn tevens de gehalten aan Cr_2O_3 bepaald, dat in deze proeven als merksubstantie aan de rantsoenen werd toegevoegd. De gehalten der genoemde mineralen in de ultrafiltraten worden beschouwd als een maatstaf voor de opgeloste gedeelten in de mest en in de darminhoud. Voor de berekening van de percentages der mineralen die ultrafiltreerbaar waren, verwijzen wij naar 2.3.

Al spoedig bleek, dat de gehalten der mineralen in de blinde-darm-inhoud in de loop van de dag varieerden. Daarom werd van deze inhoud steeds viermaal, verdeeld over 24 uur, een monster van telkens ongeveer 200 g genomen. Deze vier monsters werden gemengd en dan een 'dagmonster' genoemd, welke dagmonsters voor het verdere onderzoek werden gebruikt.

De proeven

Proef A

De eerste proef, waarbij de inhoud van de blinde darm op geregelde tijden werd bemonsterd, is uitgevoerd in de eerste week (28 april tot 3 mei 1964) van de weidegang der twee fistelkoeien, derhalve aansluitend op de overgang van een stalrantsoen op gras.

Om de mest der koeien afzonderlijk te kunnen bemonsteren, zijn de dieren onder rantsoenbeweiding op ongeveer 12 meter brede, met schrikdraad van elkaar gescheiden stroken weiland ingeschaard. Het gras, waartussen veel kruiden stonden, is twee maal, steeds per strook, bemonsterd.

Om de opgenomen hoeveelheden gras te kunnen berekenen, werd bij elk dier gedurende twaalf dagen vóór de proef en ook tijdens de proef drie maal per dag 17 g Cr_2O_3 -papier, overeenkomende met 16,2 g Cr_2O_3 per dag, door de pensfistel in de pens gebracht. Voorts werden op de tweede, derde, vierde en vijfde dag na de overgang op gras dagmonsters mest en blinde-darm-inhoud genomen, waarvan ultrafiltraten werden gemaakt op de wijze, beschreven in 2.1. De analyses van het gras, de blinde-darm-inhoud, de mest en de ultrafiltraten, zijn weergegeven in de tabellen 11 en 12.

De samenstelling van het gras der twee stroken verschilde slechts weinig (tabel 11). Het K-gehalte was hoog, het Ca-gehalte goed en dat aan Na en Mg bevredigend. De negatieve aardalkali-alkaliciteit (E.A.) werd voornamelijk veroorzaakt door de hoge fosfaatgehalten.

De hoeveelheid d.s., opgenomen met het gras, werd berekend met de volgende formule, waarbij is aangenomen, dat 25% van de d.s. in het gras onverteerd bleef.

$$ds_g = \text{Cr}_2\text{O}_3 / 0,25 \text{ Cr}_2\text{O}_{3m},$$

waarin ds_g = g d.s. per dag opgenomen in gras, Cr_2O_3 = mg Cr_2O_3 per dag in de pens gebracht, Cr_2O_{3m} = mg Cr_2O_3 per g d.s. in de mest.

Uiteraard is de uitkomst niet nauwkeurig, vooral omdat het percentage van de onverteerde d.s. slechts op een schatting beruiste.

Blijkens tabel 12 zijn de gehalten aan Cr_2O_3 in mest en blinde-darm-inhoud van 29-4 tot 2-5 gestegen. Dit is niet verwonderlijk, omdat de onverteerbare

TABEL 11. Minerale samenstelling in g per 100 g d.s. en de aardalkali-alkaliteit (E.A.) per kg d.s. van het gras, dat door de fistelkoeien werd gegeten in de eerste week van de weidegang.
Mineral contents in g/100 g d.m. and the earthalkali-alkalinity (E.A.) per kg d.m. of grass, eaten by the fistulated cows in the first week after the change over to grass.

	Maartje	Lionne
Na	0,16	0,16
K	3,54	3,77
Ca	0,64	0,60
Mg	0,21	0,22
P	0,54	0,56
E.A.	-26	-55

resten na de overgang van het stalrantsoen naar gras, kleiner zullen zijn geworden wegens de betere verteerbaarheid van het gras in vergelijking met het stalrantsoen.

Volgens onze berekening met de bovenstaande formule nam Maartje in de grasperiode gemiddeld 9,0 kg d.s. per dag op en Lionne 12,1 kg.

Wat het gedrag der mineralen betreft (tabel 12), komt de tegenstelling tussen de alkalimetalen aan de ene zijde en de aardalkaliën en het fosfaat aan de andere zijde duidelijk tot uiting. De gehalten aan K en vooral die aan Na waren in de mest en zijn ultrafiltraat veel lager dan die in de blinde-darm-inhoud en het ultrafiltraat daarvan, terwijl het tegengestelde het geval was bij het Ca en Mg en tot op zekere hoogte ook bij het fosfaat. De verhoudingen van de gehalten van de laatste drie tot de gehalten aan droge stof waren in de blinde-darm-inhoud en in de mest ongeveer gelijk. Wij herinneren er aan, dat de reden van de genoemde tegenstelling daarin gelegen is, dat de netto-resorptie van Na en K in de dikke darm nog doorgaat, zelfs in nog sterkere mate dan die van het water, terwijl dit bij het Ca en Mg niet het geval is. In 3.6 wordt hier nader op ingegaan.

Beziet men in tabel 12 de gehalten, betrekking hebbende op de achtereenvolgende dagen, dan vallen nog enige bijzonderheden op.

Zo waren de gehalten aan *natrium* in de mest op 30-4 ongeveer het dubbele van die op de andere proefdagen. Ook in de onder 3.1.1 beschreven proeven werd een dergelijke voorbijgaande stijging gezien, die wellicht moet worden toegeschreven aan uitdrijving van Na als gevolg van de stijging der K-opneming.

Voorts daalden de Na-gehalten van blinde-darm-inhoud en mest in de loop der proefperiode voortdurend. Dit moet hoogstwaarschijnlijk worden toegeschreven aan de overgang van het stalrantsoen naar het Na-arme grasrantsoen.

Bij het *kalium* werd een dergelijke daling niet waargenomen; bij Lionne was er zelfs een toeneming, waarschijnlijk ten gevolge van het hoge K-gehalte van het gras.

TABEL 12. De gehalten aan Na, K, Ca en Mg in meq en de gehalten aan fosfaat in mmol per kg ongedroogde blinde-darm-inhoud resp. mest en de gehalten van die mineralen per l ultrafiltraat (u.f.) van de blinde-darminhoud resp. van de mest der fistelkoeien na de overgang van een stalrantsoen op gras. De proefkoeien zijn de 28ste april de wei ingegaan.

Proef A	monster	Na		K		Ca	
		per kg	per l u.f.	per kg	per l u.f.	per kg	per l u.f.
MAARTJE							
blindedarm-inhoud	30-4	72,8	68,3	38,5	32,5	55,5	12,3
	1-5	71,9	67,5	45,0	35,3	42,1	10,1
	2-5	56,2	52,8	39,5	32,4	37,0	10,5
mest	29-4	9,7	11,4	20,3	20,2	94,8	27,1
	30-4	20,9	19,6	24,2	21,1	105,2	21,0
	1-5	8,0	7,0	23,6	19,6	111,2	20,4
	2-5	5,2	4,4	22,2	20,0	121,2	23,5
LIONNE							
blindedarm-inhoud	29-4	62,0	52,7	57,8	49,5	57,8	12,7
	30-4	70,8	61,7	54,7	48,3	55,8	9,5
	1-5	54,2	48,6	65,0	54,6	57,4	7,6
	2-5	45,5	41,0	72,8	61,8	50,1	10,7
mest	29-4	6,4	5,5	29,8	29,1	112,0	25,2
	30-4	13,5	11,6	36,5	26,5	122,5	15,5
	1-5	8,2	5,1	49,6	44,2	124,8	11,4
	2-5	4,5	4,0	44,3	37,0	110,0	11,6

Bij het *calcium* is het enige wat opvalt, de daling van de gehalten in de ultrafiltraten van de mest.

Bij het *magnesium* zagen wij in de loop der proef een sterke daling van de gehalten in het ultrafiltraat van de darminhoud, vooral bij Lionne. Ook in de blinde-darm-inhoud als zodanig toonden de gehalten aan Mg een onmiskenbare daling, zij het van geringere omvang.

Wat ten slotte het *fosfaat* aangaat, maken wij slechts opmerkzaam op een matige stijging van de gehalten in de mest, blijkbaar in hoofdzaak veroorzaakt door het hoge gehalte in het gras.

Proef B

In deze proef met dezelfde twee koeien hebben wij de invloed van het verstrekken van extra Ca aan één der dieren, Lionne, onderzocht; Maartje diende voor controle. Bij Lionne werd drie maal per dag 27 g CaCO_3 via de fistel in de pens gebracht, overeenkomende met 31,5 g Ca per 24 uur. Deze toediening vond plaats van 3 tot 12 mei. Voor het overige is proef B een voortzetting van proef A. De dieren liepen weer op afgezetste stroken land en aten enkel gras; met de toediening van Cr_2O_3 werd doorgegaan.

Contents of Na, K, Ca, and Mg (meq) and the contents of fosfate (mmol) per kg wet caecal contents c.q. feces and the concentrations of the minerals in ultrafiltrates of caecal contents and feces of fistulated cows after the change over to grass.

Mg		P		droge stof	Cr ₂ O ₃	pH u.f.
per kg	per l u.f.	per kg	per l u.f.	g/100 g	mg/g d.s.	
38,6	18,4	12,2		8,86	6,05	7,39
35,2	16,4	8,4	1,0	6,40	6,97	7,45
33,6	14,3	7,4	0,8	5,77	7,18	7,27
62,3	34,9	16,0	0,9	12,09	5,59	6,84
60,2	32,5	20,8	1,0	13,98	6,34	6,90
79,8	33,9	21,8	0,7	13,83	7,32	7,10
89,8	47,2	20,8	0,9	14,33	7,02	7,05
44,6	18,5	13,7	0,4	8,50	4,38	6,92
39,7	14,0	15,8	1,5	8,95	4,93	7,10
35,0	12,2	15,9	2,3	7,88	4,96	7,25
34,7	9,8	12,5	1,9	6,70	4,72	7,01
74,0	39,3	22,9	1,7	13,72	4,75	6,90
85,4	29,5	27,3	1,4	15,99	4,91	6,81
86,6	23,2	35,2	4,1	15,91	5,43	6,80
79,4	20,4	29,7	2,4	13,30	5,31	6,35

Het gras werd bemonsterd op 5 en op 8 mei. Uit de verkregen monsters werden submonsters getrokken voor de analyse. Op 8, 11 en 12 mei werden ook de mest en de blinde-darm-inhoud der twee dieren bemonsterd.

De belangrijkste uitkomsten van proef B zijn samengevat in tabel 13 tegelijk met enige cijfers betreffende proef A. Bij de besprekingen zullen wij ons beperken tot de aardalkaliën en het fosfaat.

Terwijl de gehalten aan calcium in mest en blinde-darm-inhoud bij Maartje in proef B ongeveer gelijk waren aan die in proef A, was er bij Lionne een sterke stijging ten bedrage van 35 resp. 20 meq per kg. Deze stijging moet ongetwijfeld grotendeels worden toegeschreven aan de toediening van de 31,5 g = 1580 meq Ca per dag en wellicht daarnaast aan het hogere Ca-gehalte van het gras van Lionne, vergeleken bij dat van Maartje.

Ook wat de ultrafiltraten van mest en blinde-darm-inhoud betreft, zagen wij bij Lionne een sterke stijging, vooral in vergelijking met Maartje, die een aanzienlijke daling te zien gaf. In het ultrafiltraat van de darminhoud ging de daling bij Maartje zelfs tot 6,7 meq per l.

Ook bij het magnesium traden de verschillen tussen proef A en proef B en tussen de twee dieren aan de dag: bij Maartje was er nl. een duidelijke daling

TABEL 13. De gehalten aan enkele minerale bestanddelen in het gras in g/100 g d.s. en de gehalten aan Na, K, Ca en Mg in meq en de gehalten aan fosfaat in mmol in de inhoud van de blinde darm en in de mest der fistelkoeien, alsmede de gehalten in de ultrafiltraten (u.f.) daarvan. Het ultrafiltreerbare (u.f.b.) gedeelte is uitgedrukt in procenten van de totale hoeveelheid. Het droge-stof-gehalte is opgegeven in g/100 g mest of darminhoud; de E.A. in meq/kg. De cijfers zijn gemiddelden van vier (proef A), resp. drie (proef B) analyseuitkomsten. Lionne kreeg in proef B 31,5 g Ca/dag extra.

proef A							
		gras			blinde-darm-inhoud		
			per kg	per l u.f.	% u.f.b.		mest
						per kg	per l u.f.
							% u.f.b.
MAARTJE							
Na	0,16		67,0	62,9	87	11,0	10,6
K	3,54		41,0	33,4	76	22,6	20,2
Ca	0,64		44,9	11,0	23	108,1	23,0
Mg	0,21		35,8	16,4	43	73,0	37,1
P	0,54		9,3	0,9	9	19,8	0,9
d.s.			7,01			13,56	
E.A.	-26						
LIONNE							
Na	0,16		58,1	51,0	81	8,2	6,6
K	3,77		62,6	53,6	79	40,0	34,2
Ca	0,60		55,3	10,1	17	117,3	16,0
Mg	0,22		38,5	13,6	33	81,4	28,1
P	0,56		14,5	1,5	10	28,8	2,4
d.s.			8,01			14,73	
E.A.	-55						

* gemiddelde van de analyses van 5-5-'64 en 8-5-'64

van de gehalten in de blinde-darm-inhoud en in de ultrafiltraten, bij Lionne daarentegen een stijging, althans wat de beide ultrafiltraten betreft.

Wat de *fosfor* aangaat, werden er in proef B geen duidelijke verschillen tussen de koeien gezien.

De *aardalkali-alkaliteit* van het gras (meq/kg d.s.) was bij beide proeven laag en meestal zelfs negatief. Misschien was de lage waarde bij Maartje in proef B oorzaak of mede-oorzaak van de lage waarden aan Ca en Mg in de ultrafiltraten. Bij Lionne daarentegen was de E.A. van het gras in proef B positief; bovendien ontving dit dier extra Ca. Blijkbaar resulteerde dit, vergeleken bij Maartje, in aanzienlijk hogere gehalten aan Ca in mest, blinde-darm-inhoud en de twee ultrafiltraten. Voorts kunnen wij ons niet onttrekken aan de gedachte, dat ook de hogere gehalten aan magnesium in de ultrafiltraten bij Lionne in proef B daarmee samenhangen. Het is nl. aannemelijk, dat bij Lionne, die extra Ca ontving, een groter deel van o.a. het fosfaat door Ca bezet was dan bij Maartje, waardoor meer Mg in opgeloste toestand bleef en dus ultrafiltreerbaar was.

Percentages of Na, K, Ca, Mg and P in grass (g/100 g d.m.) and the contents of the kations in meq and fosfate in mmol in caecal contents and in feces. The ultrafiltrable (u.f.b.) part of the minerals is expressed as percentage of the total amount. The values represent averages of four (experiment A), resp. three (experiment B) samples. In experiment B Lionne was given 31,5 g Ca per day as CaCO_3 .

gras*	proef B					
	blinde-darm-inhoud			mest		
	per kg	per l u.f.	% u.f.b.	per kg	per l u.f.	% u.f.b.
0,16	51,8	49,7	92	4,5	4,0	78
3,63	65,4	60,7	89	45,6	39,8	77
0,63	39,3	6,7	16	118,0	12,1	9
0,24	24,4	6,3	25	65,3	21,1	28
0,57	10,6	1,2	11	28,3	2,6	8
	4,44			11,97		
-46						
0,26	58,6	56,7	90	6,1	5,4	78
3,23	53,4	48,6	85	23,4	21,2	80
0,70	75,3	15,8	20	152,5	22,4	13
0,25	35,8	18,6	48	75,1	37,9	44
0,54	13,6	1,5	10	27,6	2,3	7
	6,75			11,90		
+36						

Proef C

Bij deze proef werd de E.A. niet verhoogd door toevoegen van Ca of Mg, maar verlaagd door toediening aan Lionne van 20,4 g P per dag in de vorm van $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ via de pensfistel; de fistelkoe Maartje was weer controlekoe. Wederom werd bij beide dieren Cr_2O_3 in de pens gebracht.

Het gras, dat weer het enige bestanddeel van het rantsoen vormde, verkeerde in een vergevorderd groeistadium. Dat van Lionne bevatte iets méér Ca en Mg en iets minder P dan dat van Maartje, zodat de E.A. in het gras van Lionne niet onaanzienlijk hoger was (+121 tegen +22 meq/kg d.s.).

Wanneer wij aannemen, dat Lionne 14 kg d.s. per dag opnam, zou de E.A. per kg d.s. door het extra fosfaat $20,4/14 = 1,46$ g of 142 meq per kg d.s. lager zijn geworden en dus gedaald zijn tot $121 - 142 = -21$. Had het dier slechts 12 kg d.s. gegeten, dan zou de daling tot $121 - 165 = -44$ zijn gegaan, dus steeds tot negatieve waarden; maar het verschil met de controlekoe was niettemin kleiner dan wij gehoopt hadden.

Toch lagen de verschillen tussen de twee dieren blijkens tabel 14 in de lijn van

TABEL 14. De gehalten aan enkele mineralen in het gras in g/100 g d.s. en de gehalten aan Na, K, Ca en Mg in meq en de gehalten aan fosfaat in mmol in de inhoud uit de blinde darm en in de mest van de fistelkoeien, alsmede de gehalten in het ultrafiltraat van de blinde-darm-inhoud en de mest. Het droge-stof-gehalte is opgegeven in g per 100 g; de E.A. in meq per kg d.s. Lionne kreeg 20,4 g P per dag extra. De gegeven gehalten in mest en blinde-darm-inhoud zijn gemiddelden van vijf uitkomsten, verkregen in de periode van 21-5 tot 28-5-'64.

The percentages of several minerals in grass (g/100 g d.m.) and the contents of Na, K, Ca and Mg in meq and of fosfate in mmol in caecal contents and in feces of the fistulated cows; and the concentrations of these minerals in the ultrafiltrates of caecal contents and feces. The d.m. content is given as g per 100 g; the E.A. in meq per kg of d.m. Lionne was offered daily 20,4 g P as $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$. The values for caecal contents and feces represent averages of five days out of the period of 21-5-1964 till 28-5-1964.

proef C	gras	blinde-darm-inhoud			mest		
		per kg	per l u.f.	% u.f.b.	per kg	per l u.f.	% u.f.b.
Maartje (geen $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$)							
Na	0,18	61,7	57,5	92	5,5	5,5	89
K	3,42	54,7	49,1	84	34,1	29,9	78
Ca	0,48	36,4	8,4	22	74,8	13,5	16
Mg	0,20	28,7	13,2	43	56,0	30,0	47
P	0,40	17,9	2,1	11	34,1	4,5	12
d.s.		6,54			11,52		
E.A.	+22						
Lionne ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$)							
Na	0,27	56,1	57,9	84	14,3	12,4	78
K	3,26	70,1	59,7	80	60,4	49,9	74
Ca	0,55	40,0	7,7	18	73,8	11,3	14
Mg	0,26	28,8	11,4	37	54,7	21,4	35
P	0,38	27,4	6,7	23	47,8	11,2	21
d.s.		6,78			10,63		
E.A.	+121						

de verwachting. De gehalten aan Ca en Mg in de ultrafiltraten waren bij de proefkoe Lionne nl. steeds iets lager dan die bij de controlekoe Maartje. Bij Lionne bedroeg het percentage van al het Ca in de mest en de blinde-darm-inhoud dat ultrafiltreerbaar was, nl. achtereenvolgens 14 en 18%, bij de controlekoe 16 en 22%. Nog groter was het verschil bij het Mg, nl. 35 en 37% tegen 47 en 43%. Wij zijn echter van mening, dat deze verschillen niet zonder meer aan de verschillen in E.A. toe te schrijven zijn, omdat er, behalve de E.A., ook nog andere grootheden door de fosfaattoediening werden gewijzigd.

Zonderaan het volgende verdere beschouwingen te verbinden, wijzen wij nog op de onverklaarbaar hoge K-gehalten in de mest en in de blinde-darm-inhoud, als ook op de hoge fosfaatgehalten in de beide ultrafiltraten bij Lionne in vergelijking met die bij Maartje. Met dit laatste gingen geen duidelijke verschillen in pH tussen de overeenkomstige ultrafiltraten bij de twee dieren gepaard.

Proef D

Na de vorige drie proeven met grasrantsoenen werd met Lionne nog een proef genomen met een winterrantsoen, bestaande uit 8 kg hooi, 4 kg gedroogde pulp en 4 kg A-koek. Een controlekoe was er ditmaal niet.

Gedurende de proefperiode (28-5-'64 tot 15-6-'64) werd op 10, 11 en 14 juni de blinde-darm-inhoud onderzocht, terwijl de mest over de drie daaraanvolgende etmalen werd bemonsterd en onderzocht. Ook werd weer Cr_2O_3 in de pens gebracht, waarop in 3.7.2 nader zal worden ingegaan.

De uitkomsten der analyses zijn samengevoegd in tabel 15. Hierin stellen alle cijfers, betrekking hebbende op de mest, de blinde-darm-inhoud en de daaruit verkregen ultrafiltraten, gemiddelden van drie afzonderlijk onderzochte monsters voor.

TABEL 15. De gehalten aan enkele mineralen in het rantsoen in g/100 g d.s. en de gehalten aan Na, K, Ca en Mg in meq en de gehalten aan fosfaat in mmol/kg verse blinde-darm-inhoud en per kg verse mest, alsmede de gehalten in meq resp. mmol/l ultrafstraat (u.f.). De ultrafiltreerbare (u.f.b.) fracties zijn uitgedrukt in procenten van het in totaal aanwezige mineraal. Het droge-stof-gehalte is opgegeven in g/100 g; de E.A. in meq/kg. Het rantsoen bestond uit 8 kg hooi, 4 kg gedroogde pulp en 4 kg A-koek. *The percentages of several minerals in the ration (g/100 g d.m.) and the contents of Na, K, Ca and Mg in meq and the contents of fosfate in mmol per kg wet caecal contents and feces; together with the concentrations in meq, resp. mmol per l ultrafiltrate (u.f.). The ultrafiltrable (u.f.b.) fractions are given in percentages of the total amounts. The d.m.-content is given as g per 100 g. The ration was composed of 8 kg hay, 4 kg dried pulp and 4 kg cake (low protein).*

proef D	rantsoen	blinde-darm-inhoud			mest		
		per kg	per l u.f.	% u.f.b.	per kg	per l u.f.	% u.f.b.
Lionne							
Na	0,26	69,5	63,2	83	17,0	15,8	81
K	2,06	52,6	44,8	78	40,3	39,8	85
Ca	0,52	61,1	13,9	21	102,8	26,6	22
Mg	0,20	42,4	23,5	51	73,5	47,2	56
P	0,37	27,1	4,2	14	45,8	6,5	12
d.s.		9,09			13,17		
E.A.	+ 72						

Evenals in de vorige proeven bleek bij het Mg, dat de twee percentages, aangevende de ultrafiltreerbare fracties in mest en in blinde-darm-inhoud, ongeveer gelijk waren. Terwijl op de grasrantsoenen de percentages ultrafiltreerbaar Ca en P in de blinde-darm-inhoud over het algemeen iets groter bleken te zijn dan die in de mest, waren deze percentages in deze proef nagenoeg gelijk.

Proef E

Van begin maart 1965 af kreeg Lionne, die toen geen melk meer gaf, een rantsoen, dat enkel bestond uit 7 kg hooi en 10 kg voordroogkuil, dus een win-

terrantsoen zonder krachtvoer. Op 19, 23 en 25 maart is bij deze koe de blinde-darm-inhoud bemonsterd. De mest is op 19, 23 en 26 maart telkens over 24 uur verzameld en eveneens bemonsterd. Van de blinde-darm-inhoud en de mest zijn weer ultrafiltraten bereid.

TABEL 16. De gehalten aan enkele mineralen in het rantsoen in g/100 g d.s. en de gehalten aan Na, K, Ca en Mg in meq en de gehalten aan fosfaat in mmol/kg verse darminhoud en mest van Lionne, alsmede de gehalten aan die bestanddelen in de ultrafiltraten (u.f.) van de darminhoud en de mest. Verder is de ultrafiltreerbare (u.f.b.) fractie der mineralen uitgedrukt in % van de totale hoeveelheden. Elk cijfer is het gemiddelde van drie analyseuitkomsten. Het droge-stof-gehalte is opgegeven in g/100 g; de E.A. in meq/kg.

The percentages of several minerals (g per 100 g) in the ration and the contents of Na, K, Ca and Mg per kg wet caecal contents and feces of Lionne; and the concentrations in the ultrafiltrates (u.f.) of caecal contents and feces. The ultrafiltrable (u.f.b.) fractions in percentages of the total amounts are also given. The values are averages of three samples. The d.m.-content is indicated as g per 100 g; the E.A. in meq per kg d.m.

proef E	rantsoen	blinde-darm-inhoud			mest		
		per kg	per l u.f.	% u.f.b.	per kg	per l u.f.	% u.f.b.
Lionne							
Na	0,27	85,6	91,6	96	19,0	22,8	101
K	2,59	48,3	47,5	89	40,4	39,9	84
Ca	0,48	56,3	9,1	15	95,3	10,4	9
Mg	0,17	33,8	12,2	33	55,7	15,8	24
P	0,29	24,3	2,6	10	39,4	2,6	6
d.s.		9,85			15,39		
E.A.	+ 88						

In tabel 16 zijn de uitkomsten van de proef vermeld; het Na en K laten wij echter onbesproken.

In het hoofdbestanddeel van dit rantsoen, het hooi, werden betrekkelijk lage gehalten aan aardalkalimetalen gevonden; het Mg-gehalte was zelfs opvallend laag. Ondanks de aanzienlijk hogere gehalten aan Ca en Mg in het kuilgras waren de gehalten der aardalkalimetalen ook in het gehele rantsoen onbevredigend. Niettemin bleek de E.A. gunstig te zijn als gevolg van het eveneens lage fosfaatgehalte van het hooi.

Zoals gewoonlijk waren de gehalten aan Ca, Mg en P in de mest aanzienlijk hoger dan die in de blinde-darm-inhoud; rekent men ze echter om op droge stof, dan is het verschil maar gering.

De gehalten aan Ca, Mg en P in het ultrafiltraat van de mest waren bij deze proef bijna alle zeer laag in vergelijking met de overeenkomstige gehalten in proef D (hooi, gedroogde pulp, A-koek) en vertoonden een grote overeenkomst met die gehalten in de tweede voederproef (3.1.1; 'kopziekte'-rantsoen). Een uitzondering werd gevormd door het Mg, waarvan de gehalten in het mestul-

trafiltraat bij de voederproef ongeveer 24 meq per l waren tegen 15,8 meq per l in proef E. Zo waren de gehalten aan Ca in het mestultrafiltraat bij de voederproef even ver gedaald als die in proef E, in beide gevallen tot slechts 10 meq per l; ook de percentages ultrafiltreerbaar waren gelijk, nl. niet meer dan 9%. Voorts kwamen voor het Mg ook de percentages ultrafiltreerbaar met elkaar overeen.

Bij de ultrafiltraten van de blinde-darm-inhoud deed zich hetzelfde beeld voor. Ook hier waren de gehalten aan Ca, P en Mg in het ultrafiltraat bij de proef E aanmerkelijk lager dan die bij proef D.

Wij hebben ons daarom afgevraagd welke bij deze proef E de oorzaken waren van de geringe ultrafiltreerbaarheid van de aardalkali-metalen en het fosfaat. Aan een hoog gehalte aan P in het rantsoen, gepaard gaande met een lage E.A., lag het zeker niet, omdat het P-gehalte van het rantsoen juist laag was. Echter waren de gehalten aan Ca en Mg eveneens laag, maar toch niet zó laag dat de E.A. daardoor aanmerkelijk daalde. Wij hellen daarom over tot de mening, dat de geringe ultrafiltreerbaarheid bij deze proef E wellicht gezocht moet worden in de lage gehalten aan Ca en Mg in het rantsoen.

Samenvatting

De proeven met twee koeien, ieder met fistels van pens en blinde darm, toonden aan, dat de verdeling van het Ca en het Mg over het ultrafiltreerbare en niet-ultrafiltreerbare gedeelte, zowel van mest als van blinde-darm-inhoud, grote verschillen te zien geeft, wanneer uiteenlopende rantsoenen worden gevoerd. Zo werd bij de fistelkoeien op rantsoenen, die uitsluitend uit ruwvoeder bestonden (enkel gras of hooi plus kuilgras), een geringere procentuele ultrafiltreerbaarheid van de aardalkaliën in mest en darminhoud gevonden dan wanneer een rantsoen werd verstrekt, waarvan krachtvoer een belangrijk bestanddeel uitmaakte. Dit houdt een bevestiging in van onze vroegere proeven, beschreven in 3.1.1.

Aangezien het krachtvoer dat in onze proeven werd verstrekt, steeds een betrekkelijk hoog gehalte aan Ca en aan Mg had en dus het Ca- en Mg-gehalte van het rantsoen verhoogde, is het mogelijk, dat de gunstige invloed van het krachtvoer op de ultrafiltreerbaarheid der aardalkalimetalen het gevolg is van de verhoging der gehalten aan Ca en aan Mg in het voer.

Daarnaast achten wij het echter waarschijnlijk, dat bij gebruik van krachtvoerrijke en tevens ruwe-celstof-arme rantsoenen minder Ca en minder Mg aan de vezeldeeltjes in de darminhoud worden geadsorbeerd, waardoor de ultrafiltreerbare fracties worden verhoogd.

Voorts menen wij, dat een hoge aardalkali-alkaliciteit van het voer, die o.a. veroorzaakt wordt door een hoog fosfaatgehalte van het rantsoen, aanleiding geeft tot een geringe ultrafiltreerbaarheid van het Ca en Mg in mest en blinde-darm-inhoud.

Gebleken is dat de percentages aan ultrafiltreerbaar Ca en Mg in de blinde darm, betrokken op de daar in totaal van ieder aanwezige hoeveelheden, ongeveer gelijk zijn aan die in de mest. Hoewel er enige afwijkingen van deze regel

werden gezien, kan toch het onderzoek naar de Ca- en Mg-gehalten in het mest-ultrafiltraat belangrijke aanwijzingen geven omtrent de gehalten in het ultrafiltraat van de blinde-darm-inhoud bij dezelfde koe.

3.3 DE GEHALTEN AAN Na, K, Ca, Mg EN P IN DE DARMINHOUD VAN PAS GEDODE EN VAN LEVENDE DIEREN

Zoals in de aanhef van 3.2.1 is gezegd, ging onze belangstelling vooral uit naar de *dunne darm*, omdat de resorptie van Ca en Mg volgens STORRY (1961) en volgens CARE en VAN 'T KLOOSTER (1965) vooral in dit darmgedeelte plaats vindt, althans bij schapen.

Nu is het al lang bekend, dat de epitheliumcellen van het darmslijmvlies zeer spoedig na de dood worden afgestoten en te gronde gaan. Voorts hebben BOYNE et al. (1956) op grond van hun proeven met schapen betoogd, dat het onderzoek naar de minerale samenstelling van de darminhoud bij slachthuis materiaal niet zonder bedenking is. Niettemin hebben wij aanvankelijk gemeend, dat deze veranderingen bij koeien slechts gering kunnen zijn, wanneer de darminhoud zo snel mogelijk na het slachten wordt bemonsterd. Bij deze grote dieren toch is het volumen van het eenlagige epithelium, dat het darmslijmvlies bekleedt, slechts klein, vergeleken met de grote hoeveelheid chymus die daarin voorkomt.

Om hierover nader te worden ingelicht hebben wij een onderzoek ingesteld naar de toestand van de mineralen in de darminhoud van zes pas geslachte (3.3.1), van een genarcotiseerde levende koe en van twee koeien, waarbij lokaal anaesthesie werd toegepast; bij de laatste twee werd de darminhoud op vier resp. vijf plaatsen bemonsterd (3.3.3). Voorts werden door dr. G. WIERTZ histologische preparaten van de darmwand van dode en levende runderen gemaakt (3.3.2).

3.3.1 *De gehalten aan mineralen in de darminhoud van slachtkoeien en de verdeling dezer mineralen over de onopgeloste en de opgeloste fractie*

De onderzochte koeien kregen verschillende rantsoenen en bovendien meer-malen per dag Cr_2O_3 als merksubstantie. Zij stonden ten minste twee weken vóórdat zij geslacht werden onder ons direct toezicht op de boerderij van het laboratorium. Zij werden tot 4 à 5 uur vóórdat zij gedood werden, op de gewone wijze gevoed en daarna te Ede bij een grossier tussen 14 en 15 uur geslacht. Ongeveer drie kwartier na het slachten konden er monsters worden genomen van de inhoud uit het begin van de dunne darm en vervolgens om de vijf à zes meter tot aan de blinde darm. Uit de blinde darm en uit het midden van de dikke darm werden eveneens monsters genomen.

De verkregen monsters werden onmiddellijk naar het Laboratorium voor Virologie te Wageningen gebracht en daar een half uur gecentrifugeerd bij 27000 toeren per minuut, d.i. ca. 50000 g (Rotor R 30 van de Spinco L 50), waardoor een scheiding van de opgeloste en niet-opgeloste fractie werd teweeg gebracht.

De heldere bovenstaande vloeistof werd in polyvinylchloride-flesjes overgebracht en gedurende de nacht bij ca. 5°C bewaard. Daarna werden hierin bepaald: de pH, het elektrisch geleidingsvermogen en de ammoniak. Wanneer het niet mogelijk was ook de mineralen in deze vloeistoffen direct te bepalen, werden zij bij - 25°C bewaard.

De monsters, die niet gecentrifugeerd werden, verbleven van de aanvang af bij - 25°C tot er gelegenheid voor analyse was.

Voor de analysemethoden verwijzen wij naar 2.3.

De proeven

Aan een guste koe, *Klaasje 3*, geboren in 1950, die nog ongeveer 9 kg melk per dag produceerde, werd van 8-2-1964 af een rantsoen verstrekt, bestaande uit 5 kg hooi, 15 kg kuilgras, 3 kg pulp-brokjes en 3 kg A-koek, samen 13,4 kg d.s. per dag. Twee maal per dag werd 25 g Cr_2O_3 -papier met 31,8% Cr_2O_3 verstrekt, de laatste maal op 18-2-1964 om 9 uur des morgens vóór het slachten. Op 17 en 18 februari zijn van de mest van *Klaasje 3* op de gewone wijze ultrafiltraten bereid.

Een tweede guste koe, *Nelly 4*, 750 kg, geboren in 1952 en met een dagproductie van 5 kg melk, werd geslacht op 23-4-1964. Van 15 april af bestond het rantsoen uit 8 à 9 kg hooi, 3 kg A-koek en 3 kg gedroogde pulp.

Driemaal daags werd 17 g Cr_2O_3 -papier verstrekt. Elk mestmonster was een mengmonster van enige mestplakken. Van deze mest zijn weer ultrafiltraten gemaakt.

In de derde proef werd een jonge koe, *Nelly 7*, geboren in 1960, geslacht nadat het dier gedurende acht dagen in de wei had gelopen. Deze koe was drachtig en produceerde 13 kg melk per dag. Het gras dat door deze koe werd gegeten, zal in samenstelling zijn overeengekomen met het gras, dat door de fistelkoeien werd afgegraasd (3.2 en tabel 11). Deze fistelkoeien en *Nelly 7* zijn nl. onder rantsoenbeweiding ingeschaard geweest in dezelfde weide, maar op verschillende stroken, die door schrikdraad waren afgezet. Op het oog was het grasbestand vrij gelijkmatig. Van 27-4-1964 af is drie maal per dag 17 g Cr_2O_3 -papier verstrekt.

De koe is geslacht op 5 mei om 14.00 uur. De mest van 4-5-1964 en die van 5-5-1964 zijn bemonsterd door van ten minste acht mestplakken telkens ongeveer 200 g te verzamelen en te mengen. Van deze mest zijn weer ultrafiltraten bereid.

Een soortgelijke proef werd genomen met een oude koe, *Ikse*, geboren in 1948, die nog 14 kg melk produceerde. Zij werd op 4-5-1964 ingeschaard in dezelfde weide als *Nelly 7*. Op 8-5-1964 werd deze koe geslacht, derhalve op de vierde dag na het in de wei gaan. Van 1-5-1964 af was weer Cr_2O_3 verstrekt. Verder is deze proef uitgevoerd, zoals bij de voorgaande proeven is beschreven.

Bij deze koe bleek de complexometrische titratie van het Ca, waarbij murexide als indicator werd gebruikt, niet uitvoerbaar in het chymusvocht uit de eerste helft van de dunne darm. Overschakelen op de methode van CLARK en COLLIP, waarbij het Ca als oxalaat wordt neergeslagen en het oxalaat na oplossen wordt getitreerd met een KMnO_4 -oplossing, was niet bij alle monsters mo-

gelijk. Derhalve zijn de gehalten aan opgeloste mineralen niet steeds verkregen.

In oktober van 1964 is een vijfde koe, *Lamkje 6*, geboren in 1956, geslacht na gedurende zes dagen vier maal per dag 16 g Cr_2O_3 -papier gekregen te hebben. Deze koe was nymfomaan. De produktie bedroeg ongeveer 5 kg per dag. Het dier liep in de weide en at enkel gras.

Op 12 en 13 oktober zijn monsters van ca. 200 g verzameld van een aantal verse mestplakken, die per dag zijn samengevoegd.

Op 13 oktober, weer om ongeveer 14 uur, is *Lamkje 6* geslacht. Des morgens om 7.30 uur en om 11 uur werd nog Cr_2O_3 -papier verstrekt.

Ten slotte is op 10-12-1964 een 7-jarige guste koe, *Betsy 2*, geslacht, die nog 10 kg melk gaf en waaraan een rantsoen was verstrekt, dat bestond uit 7 kg hooi, 10 kg voordroogkuil met 53,7% d.s. en 2 kg gedroogde pulp. Verdeeld over vier porties van 16 g werd van 3-12-1964 af 64 g Cr_2O_3 -papier per dag verstrekt met 20,34 g Cr_2O_3 .

De mest van deze koe is bemonsterd op 8-12 en 9-12. Het slachten had plaats op 10-12-1964 om ongeveer 11 uur. Even vóór het vervoeren naar het slachthuis is op 10-12-1964 voor de laatste maal 16 g Cr_2O_3 -papier toegediend.

Uitkomsten

De uitkomsten van deze proeven met slachtkoeien zijn samengevat in de figuren 2, 3 en 4 en in de tabel 18. Deze figuren en tabellen hebben betrekking op de gemiddelden over alle zes dieren en rantsoenen; om ruimte te winnen is de uitgebreide tabel met de individuele cijfers niet opgenomen, ofschoon daaruit enkele gegevens in de tekst zijn besproken. De samenstelling van de proefrantsoenen is vermeld in tabel 17.

De gehalten der bij dit onderzoek betrokken minerale bestanddelen in het vocht van de darminhoud (fig. 2) tonen een goede overeenkomst met de door

TABEL 17. De minerale samenstelling, uitgedrukt in % in de droge stof, en de aardalkali-alkaliteit (E.A.) van de gehele rantsoenen van *Klaasje*, *Nelly 4* en *Betsy 2* en van het gras uit de weide waarin *Nelly 7* en *Lamkje 6* hebben ge graasd.

Mineral contents (% of d.m.) and earthalkali-alkalinity (E.A.) of the rations of Klaasje, Nelly 4 and Betsy 2 and of the grass from the pasture on which Nelly 7 and Lamkje 6 grazed.

	Klaasje	Nelly 4	Nelly 7	Lamkje 6	Betsy 2
Na	0,26	0,23	0,17	0,24	0,17
K	1,54	2,54	3,35	1,62	1,95
Ca	0,54	0,52	0,65	0,66	0,49
Mg	0,25	0,21	0,22	0,24	0,24
P	0,35	0,38	0,54	0,32	0,25
E.A.	+136	+61	-19	+213	+199

Klaasje 3 en *Betsy 2* namen per dag 13,40 kg droge stof op en *Nelly 4* 13,33 kg.

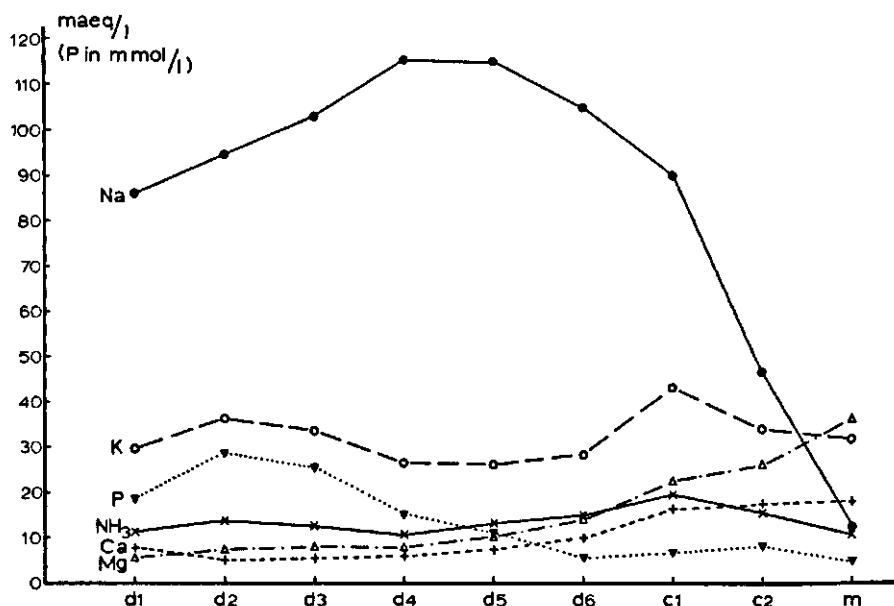


FIG. 2. De gehalten van enkele mineralen in vocht van chymus, afkomstig uit verschillende gedeelten van de dunne darm en in ultrafiltraten van dikke-darm-inhoud en mest van slachtkoeien. Voor de betekenis der tekens bij de abscis: zie fig. 3.

Concentrations of Na, K, Ca, Mg and P in clear chyme liquid from various parts of the small intestine and in ultrafiltrates of contents of the large intestine and feces of slaughter cows. For the meaning of the symbols at the abscissa: see fig. 3.

VAN WEERDEN (1959) gevonden waarden in de ultrafiltraten, eveneens afkomstig van darminhoud van slachtkoeien. De gehalten komen eveneens goed overeen met de eerder door ons gevonden waarden in de dialysaten van de dunne-darm-inhoud van een schaap, waarbij fistels waren aangebracht op vier plaatsen, verspreid over de dunne darm (VAN 'T KLOOSTER, 1964).

Na een stijging van het gemiddelde Na-gehalte in de dunne darm van ongeveer 86 tot 115 meq per l, daalde het Na-gehalte tot ongeveer 13 meq per l in het mestultraftraat. De daling was vooral sterk in de blinde en in de dikke darm. Het gemiddelde K-gehalte schommelde rond 32 meq/l.

Aan deze slachtkoeien waren rantsoenen met verschillende hoeveelheden mineralen verstrekt (tabel 17). Op de Na- en K-gehalten in het dunne-darm-vocht heeft het rantsoen echter weinig of geen invloed gehad. In de ultrafiltraten van de mest waren de verschillen in de Na-gehalten aanzienlijk. Zij zijn in deze proeven echter niet duidelijk te herleiden tot verschillen in de Na-gehalten der rantsoenen.

De koeien die voorjaarsgras hadden gegeten, hadden een hoger K-gehalte in de inhoud van de blinde darm dan de koeien die een stalrantsoen hadden ont-

vangen. In de blinde darm van Nelly 7, de koe die het gras met het hoogste K-gehalte (3,35%) had gekregen, vonden wij zelfs 67,5 meq per l tegen gemiddeld ongeveer 36 meq per l bij de overige koeien. Ook in het vocht uit de andere darmgedeelten en in het mestultrafiltraat vonden wij bij dit dier een hoog gehalte aan K.

Het gehalte aan Ca in het vocht uit de dunne-darm-chymus bedroeg gemiddeld 7 meq per l. In de blinde en in de dikke darm was het Ca-gehalte gemiddeld ongeveer 17 meq per l. De laagste gehalten werden gevonden bij Nelly 7, hoewel het Ca-gehalte in het gras dat deze koe had gegeten, hoger was dan dat in

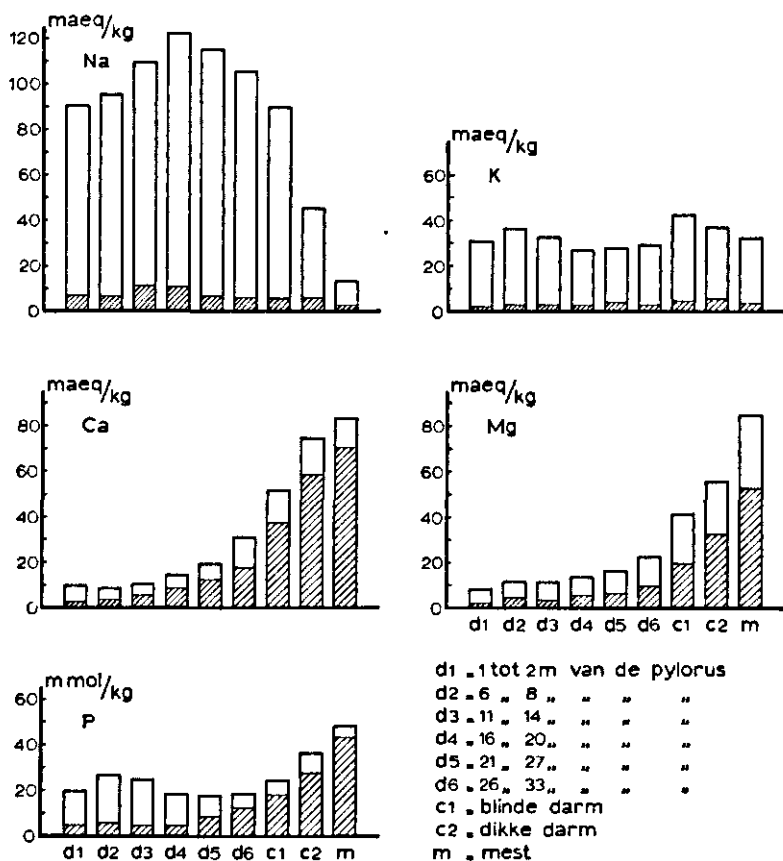


FIG. 3. De gehalten van enkele mineralen per kg darminhoud, afkomstig uit verschillende gedeelten van de darm en per kg mest van slachtkoeien. De onopgeloste en de opgeloste fracties zijn aangegeven als de gearceerde en de niet-gearceerde gedeelten van de kolommen.

Amounts of minerals per kg gut contents from various parts of the intestine and per kg feces. The hatched parts of the columns represent the undissolved (gut contents) and non-ultrafiltrable (feces) fractions of the minerals.

de rantsoenen van Klaasje 3, Nelly 4 en Betsy 2. Bij Nelly 7 werden eveneens zeer lage Ca-gehalten gevonden in het blinde-darm-vocht en in de ultrafiltraten van de mest.

De Mg-gehalten in het dunne-darm-vocht lagen bij de proefkoeien tussen 5,1 en 18,3 (gemiddeld 9) meq per l. Aanzienlijk hogere gehalten werden gevonden in de blinde darm, de dikke darm en in de mestultrafiltraten. Bij Nelly 7 werden in het eind van het ileum, de blinde darm, de dikke darm en in de mest aanzienlijk lagere waarden gevonden. Vermoedelijk werd dit niet veroorzaakt door het niet bijzonder lage Mg-gehalte in het voorjaarsgras dat deze koe ontving, maar door het hoge P-gehalte (0,54 % in de d.s.).

De P-gehalten in het vocht van de dunne-darm-inhoud waren het hoogst in de monsters die verzameld waren op 6 à 14 m van de pylorus (d_2 en d_3). In de loop van de dunne darm daalden de gehalten totdat in het einde van de dunne darm de laagste waarden werden gevonden. Verder op in de darm bleven de P-gehalten op dit lage niveau. De hoogste gehalten werden gevonden bij Nelly 7, hetgeen te verwachten was, omdat het gras van deze koe een hoog P-gehalte had.

Samenvattend kunnen wij zeggen, dat van een duidelijke invloed van het rantsoen op de gehalten der mineralen in opgeloste vorm in de inhoud van de dunne darm bij deze proeven nog weinig is gebleken (zie echter 3.4).

De gemiddelde totale gehalten aan de verschillende minerale bestanddelen in de chymus der opeenvolgende gedeelten van de darm en in de mest zijn weergegeven in fig. 3. De gehalten aan Na en K geven een zelfde verloop te zien als de gehalten aan die mineralen in het vocht van de darminhoud (fig. 2). Dit is niet verwonderlijk; immers de alkalimetalen, Na en K, zijn in de darminhoud en in de mest nagenoeg geheel in oplossing.

De totale gehalten aan Ca en Mg in de chymus stegen in het beloop van de darm duidelijk sneller dan de fracties opgelost in het vocht.

Van het fosfaat daalden de totale gehalten en de opgeloste fracties daarvan in de dunne darm alle twee om in de tweede helft van de dunne darm de laagste waarden te bereiken. Maar terwijl de opgeloste fracties verder op in de darm laag bleven, stegen de totale gehalten voortdurend.

In fig. 4 zijn de gemiddelde totale gehalten aan de mineralen in de chymus en de mest van de slachtkoeien wederom uitgezet, maar nu berekend per 100 g droge stof.

De overeenkomst tussen de figuren 3 en 4 is opvallend. Op 6 à 8 m van de pylorus (d_2) echter, blijken de gehalten aan verschillende minerale bestanddelen (fig. 4) een minimum te doorlopen in tegenstelling met het beeld in fig. 3. Vooruitlopende op het vervolg van deze paragraaf zij alvast gezegd, dat dit naar onze mening moet worden toegeschreven aan een hoger gehalte aan d.s. ter plaatse. Hetzelfde geldt voor het lage Ca-gehalte per 100 g d.s. in de mest.

Stijging van de gehalten aan de verschillende minerale bestanddelen per 100 g d.s. duidt op een snellere resorptie van de d.s. dan die der mineralen, terwijl een daling op het tegengestelde wijst.

Zo was de netto-resorptie van het *natrium* in het begin van de dunne darm

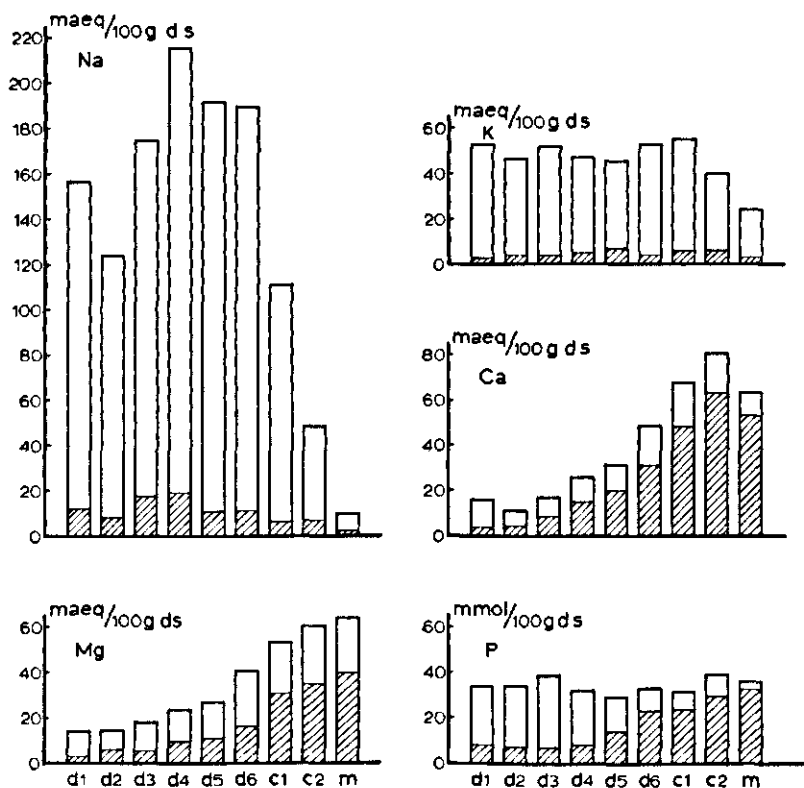


FIG. 4. De gehalten van enkele mineralen per 100 g droge stof van darminhoud uit verschillende gedeelten van het darmkanaal en van mest van slachtkoeien. De onopgeloste en de opgeloste fracties zijn aangegeven als de gearceerde en de niet-gearceerde gedeelten van de kolommen. Voor de betekenis der tekens bij de abscis: zie fig. 3.

Amounts of minerals per 100 g d.m. of gut contents from various parts of the intestine and of feces. The hatched parts of the columns represent the undissolved (gut contents) and non-ultrafiltrable (feces) fractions of the minerals.

blijkbaar geringer dan die van de d.s.; maar in de tweede helft van de dunne darm en in de dikke darm was zij groter.

De netto-resorptie van het kalium hield in de dunne darm gelijke tred met die van de d.s.; in de dikke darm echter won de K-resorptie het van de d.s.-resorptie.

Het calcium en het magnesium werden in de gehele dunne darm minder goed geresorbeerd dan de droge stof. Pas van de blinde darm af was er ongeveer evenwicht. Het fosfaat ten slotte, werd in de gehele darm ongeveer even snel geresorbeerd als de d.s.

Op enkele kwantitatieve aspecten van de mineralen-resorptie in de dunne darm komen wij nog terug (3.7.2).

Uit de figuren 3 en 4 blijkt ook, dat in het begin van de dunne darm aanzien-

lijke hoeveelheden van de mineralen in opgeloste vorm aanwezig waren. Van het Ca, het Mg en de P was in het begin van de dunne darm zelfs meer dan 70% in opgeloste vorm aanwezig. Verder op in de darm nam het opgeloste gedeelte af; in het einde van de dunne darm was nog 35% van het Ca, 58% van het Mg en 31% van de P in oplossing, terwijl deze percentages in de mest waren gedaald tot resp. 15, 38 en 9.

Het opgeloste Ca in de dunne darm leek afhankelijk te zijn van de pH der digesta. Voor Mg en P was een dergelijk verband minder duidelijk. STORRY (1961) kwam na zijn onderzoek naar de verdeling van Ca en Mg over de ultrafilterbare en niet-ultrafilterbare gedeelten van de inhoud der verschillende gedeelten van het maagdarmkanaal van schapen tot een zelfde conclusie.

Van een invloed van het rantsoen op de verdeling van de minerale bestanddelen over de opgeloste en niet-opgeloste fracties van de dunne-darm-inhoud zijn geen duidelijke aanwijzingen verkregen. Echter werd in de mest van de koeien die een grasrantsoen ontvangen hadden, minder van het Ca en van het Mg in ultrafilterbare vorm gevonden dan in de mest van koeien die een winterrantsoen hadden ontvangen. Op het grasrantsoen was het gemiddeld 9% Ca en 28% Mg en op de winterrantsoenen gemiddeld 21% Ca en 48% Mg. Dit is geheel in overeenstemming met onze vroegere proeven (3.1.1 en 3.2).

Tussen de E.A. van het rantsoen en de verdeling van de mineralen over het opgeloste en het niet-opgeloste gedeelte van de droge stof der darminhoud werd geen verband gevonden. Zoals gezegd, was op de grasrantsoenen aanzienlijk minder van het Ca en Mg in de mest ultrafilterbaar dan op de rantsoenen van hooi en krachtvoer. De E.A. van de rantsoenen speelde daarbij mogelijk een rol.

TABEL 18. De gemiddelde pH van de darmvuchten en het mestultrafiltraat der slachtkoeien, alsmede het elektrische geleidingsvermogen van die vloeistoffen. Verder zijn vermeld de gemiddelde droge-stof-gehalten en de gemiddelde gehalten aan Cr_2O_3 in de chymus uit de verschillende delen van de darm en in de mest. Per dag werd gemiddeld 17,6 g Cr_2O_3 verstrekt.

Average pH of the fluid of gut contents and ultrafiltrates of feces of slaughter cows together with the electric conductivity of these fluids. The average d.m. contents and the average contents of Cr_2O_3 in chyme from various parts of the intestine and of the feces are also given. An average of 17,6 g Cr_2O_3 was offered daily.

	in de verschillende delen van de dunne darm						blinde darm	dikke darm	mest
	1-2 m (d ₁)	6-8 m (d ₂)	11-14 m (d ₃)	16-20 m (d ₄)	21-27 m (d ₅)	26-33 m (d ₆)			
pH der darmvuchten en van het mestultrafiltraat	5,5	6,3	6,8	7,4	7,5	7,6	7,2	7,0	6,9
Electrisch geleidingsvermogen der vloeistoffen in honderdtallen $\mu\text{mho's}$	121	129	130	125	127	126	128	92	67
Droge stof - g/100 g	5,77	7,73	6,25	5,70	6,05	5,55	7,70	9,30	13,25
Cr_2O_3 - mg/kg ongedroogde chymus, resp. mest	52,8	53,3	75,6	91,5	139,9	180,6	388,8	520,3	724,2

De pH van de darmvochten en van de ultrafiltraten werd bepaald met een pH-meter van LEEDS en NORTHRUP. Als standaardoplossing werd een K-biftalaat-oplossing gebruikt, die 1,02 g K-biftalaat per 100 ml bevatte. De pH van die oplossing was gelijk aan 4.

Er zijn geen maatregelen getroffen om veranderingen in de zuurtegraad van de darminhoud na het openen van de darm te voorkomen. De door ons gemeten zuurtegraden moeten dan ook niet gezien worden als zijnde de pH's, die in vivo zouden zijn gemeten.

In het begin van de darm was de inhoud zwak zuur ($\text{pH} = \text{ca. } 5$). Tot het midden van de dunne darm steeg de pH en in de tweede helft van de dunne darm was de reactie van de inhoud zwak alkalisch ($\text{pH} = \text{ca. } 7,5$). In de blinde darm en verder in de dikke darm en in de mest lag de pH ongeveer bij het neutrale punt (tabel 18).

Het elektrische geleidingsvermogen is gemeten met een weerstandsmeter, ontworpen door de Stichting Fysische en Technische Dienst voor de Landbouw. Het geleidingsvermogen is uitgedrukt in honderdtallen micromho's. Het elektrische geleidingsvermogen in het vocht van de inhoud uit de verschillende delen van de dunne darm was vrijwel gelijk. De koeien die een rantsoen van voorjaarsgras hadden gekregen, Nelly 7 en Ikse, hadden een weinig hoger geleidingsvermogen in de vloeistoffen van de dunne-darm-inhoud dan de koeien die een winterrantsoen hadden ontvangen.

In de dikke darm werden aanzienlijk lagere geleidingsvermogens gemeten. De laagste waarden werden steeds in de mest gevonden.

Het droge-stof-gehalte van de inhoud uit de dunne darm was bij 6 m het hoogst en nam geleidelijk af. In de blinde darm werden weer hogere gehalten gevonden dan in het einde van de dunne darm. Gedurende de passage van de chymus door de dikke darm had verdere indikking plaats, hetgeen een stijging van de droge-stof-gehalten tot gevolg had (tabel 18).

Er werden geen duidelijke verschillen gevonden tussen de droge-stof-gehalten bij de koeien die een winterrantsoen hadden gekregen en die welke voorjaarsgras hadden gegeten.

De Cr_2O_3 -gehalten (mg per kg darminhoud) gaven een geleidelijke stijging te zien in de opeenvolgende gedeelten van de darm. Werd 16,2 g Cr_2O_3 per dag verstrekt, dan bedroeg het Cr_2O_3 -gehalte in de inhoud van de aanvang van de dunne darm 40 à 60 mg. Aan het einde van de dunne darm was het gehalte gestegen tot 150 à 200 mg. Deze stijging zette zich in de blinde en dikke darm voort om in de mest waarden van 550 tot 850 mg per kg te bereiken. Bij de koeien, die het voorjaarsgras hebben gehad (Nelly 7 en Ikse), werden in het algemeen hogere Cr_2O_3 -gehalten gevonden dan bij de koeien, die een winterrantsoen hebben gekregen.

De spreiding der waarden was groot. De grootte van de spreiding wordt, behalve door de individuele verschillen tussen de koeien, mede bepaald door de ongelijkmatige verdeling van het Cr_2O_3 over de inhoud van het darmkanaal. Hoe groot de invloed is van de eerste factor en van de tweede konden wij niet na-

gaan. Daar de groep der proefkoeien vrij heterogeen was en de rantsoenen qua samenstellingen en aard sterk uiteen liepen, zullen de individuele verschillen niet onbelangrijk zijn geweest.

Het aantal malen per dag, dat het Cr_2O_3 werd toegediend, was niet in alle proeven gelijk. Zo werd aan Klaasje 3 het Cr_2O_3 tweemaal per dag verstrekt, terwijl Nelly 4, Nelly 7 en Ikse dezelfde hoeveelheid kregen, verdeeld over drie porties. Lamkje en Betsy kregen in plaats van de 51 g Cr_2O_3 -papier, die aan de andere koeien verstrekt was, 64 g Cr_2O_3 -papier, verdeeld over vier porties per dag. Er kon na correctie voor de verschillen in de totale hoeveelheden Cr_2O_3 die per dag werden gegeven, geen invloed van het aantal malen per dag verstrekken van Cr_2O_3 op de verdeling van deze merksubstantie over de darminhoud worden vastgesteld.

Reeds lang vóór de tweede wereldoorlog voerde de Zweed EDIN het Cr_2O_3 in als merksubstantie bij proefnemingen ter bepaling van de verteerbaarheid van het voedsel.

Een noodzakelijke voorwaarde voor de toepassing van deze techniek bestaat daarin, dat er in het maagdarmkanaal geen Cr_2O_3 verloren gaat, maar dat al het door de mond toegediende Cr_2O_3 in de mest wordt terug gevonden. Verschillende onderzoekers hebben aangetoond, dat dit op een paar procenten na inderdaad het geval is. Bij onze eigen proeven (3.7.1), werd ongeveer 95% van de per os verstrekte hoeveelheid Cr_2O_3 in de mest teruggevonden. In afzonderlijke mestplakken liepen de gehalten sterk uiteen.

Deze nauwkeurigheid was in beginsel voldoende om de Cr_2O_3 -methode, zij het met een ietwat ander doel dan EDIN e.a. voor ogen stond, toe te passen bij onze proeven met slachtkoeien, nl. voor het bepalen van de hoeveelheid chymus die per dag door een bepaald darmgedeelte vloeit. Daarom was gedurende de laatste dagen vóór het slachten steeds Cr_2O_3 toegediend, zoals hiervoor is vermeld. Heeft men in een bepaald darmgedeelte b.v. a g Cr_2O_3 per kg chymus gevonden en had men per dag b g toegediend dan bedraagt de hoeveelheid chymus die dit darmgedeelte per dag passeert, b/a kg.

Voerden wij deze berekening bij onze slachtkoeien uit, dan werd gevonden dat door de aanvang van de dunne darm per dag gemiddeld ongeveer 330 kg chymus stroomde. Op 6 à 7 m van de pylorus was het nog ongeveer even veel. Verder op in de darm nam de hoeveelheid geleidelijk af om aan het eind van de dunne darm een waarde te bereiken van 97 kg per dag. In de blinde darm was het aanzienlijk minder, nl. ongeveer 45 kg, terwijl voor de mest gemiddeld 24 kg per dag werd gevonden. Volgens deze berekening zou door het begin van de dunne darm dus per dag een hoeveelheid chymus passeren die groter is dan de helft van het lichaamsgewicht der koeien.

Blijkens de bepalingen van het droge-stof-gehalte der chymusmonsters zou deze 330 kg niet minder dan 19 kg d.s. bevatten; op 6 à 8 m van de pylorus zou het zelfs 25,5 kg zijn. De opname van droge stof heeft bij onze slachtkoeien echter maar 13 à 14 kg per dag bedragen en volgens het moderne pensonderzoek moet ongeveer de helft hiervan in de voormagen zijn verteerd en geresorbeerd,

zodat slechts de overgebleven helft der opgenomen droge stof de pylorus kan hebben bereikt.

Nu is de d.s. in de chymus niet enkel van het voedsel afkomstig, maar ook van de verteringssappen. Het is echter vrijwel ondenkbaar, dat met het speeksel, het maagsap, de gal, het pankreassap en het dunne-darm-sap zó veel d.s. naar het duodenum zou worden aangevoerd, dat het verschil van $19 - \frac{1}{2} \times 14 = 12$ kg d.s. resp. $25,5 - \frac{1}{2} \times 14 = 18,5$ kg d.s. per dag daardoor zou worden overbrugd. Het rijkt aan d.s. is ongetwijfeld de gal. Bij een dagproduktie van 20 kg gal met 2,5 % d.s. zou nog aanzienlijk minder dan 1 kg d.s. worden aangevoerd. Speeksel bevat 1 % d.s. (BAILEY en BALCH, 1961). Zelfs wanneer de gemiddelde speekselproduktie 200 l per dag zou hebben bedragen, zouden daarmee nog maar 2 kg d.s. zijn afgegeven.

Wij hebben ons daarom afgevraagd of de Cr_2O_3 -gehalten in de darminhoud wellicht te laag zijn gevonden, waardoor het verschil zou kunnen worden verklaard.

Daarom werd de hoeveelheid chymus die per dag door twee verschillende gedeelten van de dunne darm der vijfde slachtkoe (Lamkje 6) stroomde, ook nog berekend met 'lignine' als merksubstantie. In de resten van de gedroogde monsters van het gras en de darminhoud werd het 'lignine'-gehalte bepaald volgens een methode, beschreven door VAN SOEST (1963). De berekening geschiedde op dezelfde wijze als bij het Cr_2O_3 . Op deze manier werd op beide plaatsen ongeveer 25 % minder d.s. gevonden dan met Cr_2O_3 . Dit verschil moet ongetwijfeld grotendeels worden toegeschreven aan de onnauwkeurigheid van de 'lignine'-bepaling en wellicht ook nog aan onvolkomenheden van de Cr_2O_3 -methode. Hoe dit ook zij, de met 'lignine' berekende hoeveelheid droge stof was nog ten minste twee maal zo groot als redelijkerwijze mocht worden verwacht. Ook met 'lignine' werden derhalve onwaarschijnlijk grote hoeveelheden droge stof in de darminhoud gevonden.

Enige uitkomsten van andere onderzoekers wijzen in dezelfde richting. Bij schapen die door een schot in de hersenen waren gedood, vergeleken BOYNE et al. (1956) de verhouding tussen het gehalte aan N en dat aan onoplosbare as in het proximale deel van de dunne darm, met de overeenkomstige verhouding in het rantsoen. Zij stelden daarbij een aanzienlijk gestegen verhouding in de darminhoud vast. Verder onderzoek van BADAWY et al. (1958), waarbij de verhouding stikstof: 'lignine' als index werd gebruikt, bevestigde deze bevindingen, wederom bij schapen. Daarentegen was de stijging van de genoemde verhouding slechts gering, wanneer het onderzoek plaats vond aan geanaesthesteerde levende schapen. Het verschil werd toegeschreven aan de afstoting van epitheliumcellen bij de gedode dieren.

Het scheen daarom gewenst te onderzoeken of ook bij koeien een dergelijke afstoting van epitheliumcellen ten gevolge van het slachten plaats vindt en of de samenstelling van de darminhoud daardoor aanzienlijk wordt gewijzigd.

3.3.2 De veranderingen aan het dunne-darm-slijmvlies ten gevolge van het slachten

Het onderzoek betrof een drie-jarige proefkoe Anna 9 (3.3.3) en de 6-jarige

slachtkoe Roosje. Bij de eerstgenoemde koe werden onder narcose stukjes darmslijmvlies weggenomen; bij de slachtkoe gebeurde dit ca. één uur na de dood. De microscopische preparaten werden vervaardigd door dr. G. WIERTZ; wij zeggen hem gaarna dank voor zijn bereidwilligheid.

Bij dit onderzoek bleek duidelijk, dat er ook bij het rund spoedig na de dood sterke veranderingen aan het darmslijmvlies intreden. Bij de genarcotiseerde koe toonden de preparaten over het algemeen een gaaf histologisch beeld. Alleen in het eerste vierde gedeelte van de dunne darm waren de toppen der villi soms een weinig beschadigd. Het is echter niet uitgesloten, dat dit was veroorzaakt door de bewerking der preparaten.

Daarentegen was het slijmvlies van de dunne darm bij de slachtkoe Roosje sterk in verval, vooral in het proximale derde gedeelte. Het epithelium der villi was hier zelfs geheel verdwenen. De tunica propria en de centrale vaten van de villi bleken samengevallen te zijn, waardoor de dikte van het slijmvlies was afgenomen tot ongeveer een derde van die bij Anna 9. Op 5 à 6 m van de pylorus was de grens tussen de tunica propria en het bindweefsel van de plooien van Kerckring zelfs niet meer te herkennen. De laag van de kliertjes van Lieberkühn leek zo te zien weinig veranderd; maar een nauwkeurige beschouwing maakte waarschijnlijk, dat het aantal dier kliertjes in het eerste gedeelte van de dunne darm sterk gereduceerd was. Foto 1 en 2 met afbeeldingen van stukjes slijmvlies van de dunne darm op ongeveer 5 m van de pylorus, laten de verschillen tussen Anna 9 en Roosje duidelijk zien.

De beschreven veranderingen kwamen overeen met de afwijkingen aan het darmslijmvlies van slachtschapen, medegedeeld door BADAWY et al. (1957). Zij waren bij onze koeien het sterkste op 5 à 6 m van de pylorus. Verderop in de darm waren zij minder groot, terwijl aan het einde van de dunne darm maar betrekkelijk geringe afwijkingen werden gezien.

De oorzaken van deze veranderingen zijn niet duidelijk. Men heeft ze wel willen toeschrijven aan de inwerking der spijsverteringssappen op de dode slijmvliescellen, aan zuurstofgebrek en aan shock.

3.3.3 *De gehalten aan droge stof en aan mineralen in de darminhoud van geanaestheerde levende dieren*

Aangezien er blijkens het voorgaande na de dood van slachtkoeien ernstige veranderingen in het darmslijmvlies intreden (zie 3.3.2), moest de invloed daarvan op de samenstelling van de chymus worden onderzocht. Daarom is bij drie geanaestheerde levende koeien de inhoud van de dunne darm op verschillende plaatsen bemonsterd, waarna de monsters zijn bewerkt op de wijze zoals die bij de slachtkoeien is aangegeven.

Bij de drie-jarige koe Anna 9, waarbij onder narcose de in 3.3.2 beschreven stukjes darmslijmvlies werden verzameld, werd tevens de darminhoud bemonsterd en wel op 11 m en op 13 m van de pylorus. Het rantsoen van deze koe bestond uit 6 kg hooi en 10 kg voordroogkuil, de laatste met 42,4% d.s. Gedurende een volle week vóór de operatie op 23-2-1965 ontving deze koe drie maal daags 16 g Cr_2O_3 -papier, overeenkomende met 15,27 g Cr_2O_3 per dag.

TABEL 19. De gehalten aan Na, K, Ca, Mg en P in de rantsoenen van enkele proefkoeien (procenten in de droge stof).
Contents of Na, K, Ca, Mg and P in the rations of some cows as percentages of the d.m.

	rantsoen Anna 9	gras Lionne 17	gras Zwartschoft 9
Na	0,20	0,10	0,11
K	2,62	3,90	3,70
Ca	0,44	0,43	0,42
Mg	0,18	0,18	0,18
P	0,31	0,29	0,25

Voorts werd bij twee koeien, Lionne 17 en Zwartschoft 9, onder locaalanaesthesie laparotomie verricht in de rechter flank, waarbij de darminhoud op 4 resp. 5 plaatsen werd bemonsterd.

Lionne 17 was vier jaar oud en produceerde 6 kg melk per dag. Zij ontving gedurende de laatste week vóór de operatie, die op 6-5-1965 plaats vond, enkel

TABEL 20. De gehalten aan Na, K, Ca en Mg in meq en de gehalten aan P in mmol fosfaat per kg darminhoud van de koeien, waarbij tijdens het leven de darminhoud werd bemonsterd. Het opgeloste gedeelte der mineralen is in % van de totale hoeveelheden opgegeven. Verder zijn nog vermeld de drogestof-gehalten, de gehalten aan Cr_2O_3 , de pH van het darmvocht en het elektrisch geleidingsvermogen van de darmvochten.

koe m van pylorus	Na		K		Ca		Mg	
	totaal meq	opgelost %	totaal meq	opgelost %	totaal meq	opgelost %	totaal meq	opgelost %
ANNA 9								
11 m	138,8	100	14,4	96	11,2	65	8,8	80
13 m	139,0	98	14,5	96	12,2	52	9,8	80
mest	20,4	79	47,0	73	85,3	10	56,6	18
LIONNE								
10 m	115,2	98	23,2	100	6,4	76	5,3	91
16 m	139,4	94	19,8	104	8,3	55	11,2	82
17,5 m	131,8	98	21,7	101	9,9	43	11,0	73
30 m	108,1	94	39,4	98	19,3	22	18,2	43
35 m	75,6	98	62,8	94	27,8	20	26,4	31
mest	7,2	79	55,7	85	81,8	10	87,0	16
ZWARTSCHOFT 9								
22 m	124,4	97	29,8	95	12,2	41	15,7	59
25 m	113,6	97	31,7	97	11,1	48	13,8	72
29 m	102,0	98	39,7	101	17,3	22	18,4	53
31 m	82,9	101	57,8	98	21,4	19	22,8	35
mest	7,4	86	48,6	74	76,0	11	92,2	15

gras ad libitum, dat op stal werd gevoerd, maar slecht werd gegeten. Van 2 tot 6 mei werd gemiddeld slechts 6,8 kg d.s. per dag opgenomen. Als merksubstantie ontving zij drie maal daags Cr_2O_3 -papier met 16,2 g Cr_2O_3 per etmaal.

Zwartschoft 9 was vijf jaar en gaf ongeveer 13 kg melk. Ook haar rantsoen bestond uit enkel gras, dat op stal werd verstrekt en eveneens slecht werd gegeten. Van 4 mei tot de operatie op 11-5-1965 werd per dag maar 7,0 kg d.s. gebruikt. Gedurende deze tijd werd weer drie maal daags Cr_2O_3 -papier gegeven met 16,2 g Cr_2O_3 per 24 uur.

De operatieve ingrepen werden verricht aan het Laboratorium voor Fysiologie der Dieren, waarbij dr. J. H. AAFJES bereidwillig zijn medewerking verleende. De oriëntatie in het darmconvoluut was tijdens de operatie zeer moeilijk. Daarom konden de plaatsen van bemonstering pas na slachten definitief worden vastgesteld.

De samenstelling van het voeder, van de darminhoud, van de mest en van het darmvocht en de ultrafiltraten van de mest is voor alle drie koeien weergegeven in de tabellen 19 en 20.

Contents of Na, K, Ca and Mg in meq and (the contents) of fosfate in mmol per kg gut contents of three cows. The gut contents were sampled after laparotomia at local anaesthesia. The dissolved part of the minerals is expressed as the percentage of the total amount. Further are given the d.m. contents, the contents of Cr_2O_3 , the pH of the fluid from gut contents and the electric conductivity of this fluid.

P		droge stof %	pH v/h darmvocht	Cr_2O_3 mg/kg	Elektr. gel. verm.	rantsoen
totaal mmol	opgelost %					
6,2	57	4,40	7,9	111,6	123	6 kg hooi en 10 kg voordroogkuil- gras (42,4% d.s.)
7,3	55	4,96	7,5	132,1	120	
48,0	8	14,54	7,2	868,0	64	
18,0	83	3,88	6,9	101,6	138	gras
		4,31	7,9	169,0	118	
13,0	67	4,67	7,8	209,0	121	
20,3	53	4,04	8,0	303,0	124	
26,5	27	6,22	8,2	456,0	120	
70,4	18	12,86	6,8	1350,5	70	
10,1	46	3,81	8,2	158,0	138	gras
9,0	56	4,46	8,0	252,5	138	
20,0	31	3,75	8,0	239,3	131	
25,1	50	5,22	7,8	320,0	127	
66,5	19	12,02		1355,0		

Wat de droge stof betreft waren de gehalten in de chymus bij de geopereerde koeien lager dan die bij de slachtkoeien, terwijl de Cr_2O_3 -gehalten hoger waren. Daardoor kwamen de berekende hoeveelheden droge stof die op de aangegeven plaatsen per dag door de dunne darm vloeiden, veel beter met de verwachte hoeveelheden overeen dan bij de slachtkoeien. Zo werd becijferd, dat bij Anna 9, die per dag ongeveer 9,8 kg d.s. ontving, ca. 6 kg d.s. op 11 en 13 m van de pylorus passeerde. Bij Lionne 17, die per dag ongeveer 7 kg d.s. opnam, berekenen wij 4,1 kg op 10 m van de pylorus en aan het eind van de dunne darm 2,2 kg per etmaal. Bij Zwartschoft 9, die eveneens ongeveer 7 kg d.s. per dag opnam, vonden wij op 22 en 31 m van de pylorus resp. 3,9 en 2,6 kg d.s.

De gehalten aan al de verschillende mineralen daarentegen waren bij de twee groepen van koeien ongeveer gelijk per kg chymus, mest en ultrafiltraat, zij het met enige uitzonderingen. Zo waren de Na-gehalten in enkele monsters darminhoud bij de geopereerde koeien een weinig hoger en de K-gehalten iets lager dan bij de slachtkoeien. Voorts was in de mest van de drie operatiekoeien slechts een kleine fractie van het Ca en het Mg ultrafiltreerbaar. Dit werd echter ook verwacht, omdat deze koeien alle alleen maar vers of geconserveerd gras met betrekkelijk lage gehalten aan Ca en Mg ontvingen. Ten slotte werden ook lage gehalten aan opgelost fosfaat in enige monsters darminhoud gevonden, nl. in de twee monsters van Anna 9 en in die op 22 en 25 m van Zwartschoft 9.

Als een der oorzaken van de gemelde veranderingen in de dunne-darm-inhoud wordt in de eerste plaats genoemd de afstoting van het epithelium. Aan gezien het slijmvlies door ons na de dood veel dunner werd gevonden dan daarvoor, is het duidelijk, dat ook bestanddelen van de tunica propria naar de chymus zijn afgegeven, waarbij zich wellicht nog een hoeveelheid pankreassap en gal heeft gevoegd. Toch is de hoeveelheid droge stof in dit materiaal ongetwijfeld slechts gering vergeleken bij de hoeveelheid d.s. die per dag door de pylorus stroomt. Men moet echter bedenken dat het materiaal, afgegeven door de dunne darm, niet gevoegd wordt bij de niet in de pens verteerde rest van het gehele dagrantsoen, doch slechts bij dat gedeelte, dat zich ten tijde van het slachten ter plaatse bevindt en dit kan slechts een geringe fractie zijn van al de resten die in de loop van de dag passeren. Daardoor zal de verhouding tussen d.s. en Cr_2O_3 ter plaatse aanzienlijk kunnen stijgen, zoals inderdaad werd waargenomen.

Verrassend was dat de gehalten aan Na, K, Ca, Mg en fosfaat in de dunne-darm-inhoud na de dood ongeveer overeenkwamen met die in de normale darminhoud. Dit kan moeilijk anders verklaard worden dan door aan te nemen, dat de minerale samenstelling van het afgegeven materiaal niet al te zeer verschilde van die van de normale darminhoud.

Samenvattend kan worden gezegd, dat de hoeveelheid droge stof in de dunne darm van koeien kort na het slachten sterk was toegenomen door verval van de mucosa, in het bijzonder in het eerste gedeelte van de dunne darm. Daarentegen was er weinig verandering in de concentraties aan Na, K, Ca, Mg en fosfaat in de darminhoud, de mest en hun ultrafiltraten. Daarom blijft het onderzoek naar de samenstelling van de darminhoud van geslachte dieren toch van betekenis.

Niettemin dienen de uitkomsten, die bij het onderzoek van het materiaal uit de *dunne darm* worden verkregen, met de grootste voorzichtigheid te worden geïnterpreteerd. De inhoud van de *dikke darm* (coecum en colon) verandert tijdens en kort na het slachten hoogstwaarschijnlijk weinig of niet.

3.4 PROEVEN MET EEN SCHAAP EN EEN KOE, VOORZIEN VAN FISTELS IN HET BEGIN EN IN HET EINDE VAN DE DUNNE DARM (DUODENUM EN ILEUM)

Bij ons onderzoek van de darminhoud van slachtkoeien en van levende koeien werd geen duidelijk verband tussen de gehalten aan mineralen in de chymus en die in de rantsoenen waargenomen (3.3.1 en 3.3.3). Desondanks leek het waarschijnlijk dat er toch wel enig verband zou bestaan. Het niet vinden van een dergelijk verband zou het gevolg kunnen zijn zowel van de betrekkelijk geringe verschillen in de gehalten aan mineralen in de gebruikte proefrantsoenen als van een aanzienlijke variabiliteit van de gehalten in de chymus op verschillende plaatsen en zelfs op één plaats in de darm.

Bij dieren met een enkelvoudige maag is nl. gebleken, dat de gehalten aan mineralen in de chymus aan grote schommelingen onderhevig zijn (FIELD et al., 1954). Bij herkauwers, die over een uitgebreid voormagenstelsel beschikken, waaruit de digesta geleidelijk naar de darm stromen, zullen deze schommelingen weliswaar minder groot zijn, maar daarom wellicht toch niet te verwaarlozen.

Door de inhoud van een bepaald darmgedeelte meermalen per dag te bemonsteren, zou een gemiddelde samenstelling kunnen worden berekend, die vergeleken zou kunnen worden met de samenstelling van het rantsoen. Daarvoor moesten wij kunnen beschikken over proefdieren met fistels in verschillende gedeelten van de darm. Deze werden bij een schaap en een koe aangelegd en wel in de dunne darm. Als plaatsen voor de fistels werden het begin en het einde van de dunne darm gekozen, omdat het bepalen van deze plaatsen weinig moeilijkheden kon opleveren. Met het schaap werd begonnen, omdat wij nog geen ervaring in het aanleggen van darmfistels hadden.

De operatieve ingrepen zijn verricht aan het Laboratorium voor Fysiologie der Dieren. Voor de medewerking, die prof. A. M. FRENS daarbij verleende, zeggen wij hem hartelijk dank.

Als proefdieren dienden een schaap Lientje en een drie-jarige koe Lamkje 13, welke laatste bij de aanvang der proeven nog ongeveer 18 kg melk per dag produceerde.

Bij het schaap werd op 12-10-1965 onder narcose (Kemithal) laparotomie in de rechter flank verricht. Het duodenum werd opgezocht en in de wonde gefixeerd. Vervolgens werd in het duodenum een kanule gehecht, gemaakt uit een buis van hard polyvinylchloride met een inwendige doorsnede van 9 mm. Het vrije einde van de kanule werd daarna van de buikholte uit door de buikwand naast de operatiewond naar buiten gebracht en stevig gefixeerd, zodat het peritoneum viscerales en parietales vast tegen elkaar kwamen te liggen. Op dezelfde wijze als voor het duodenum is beschreven, werd op ongeveer 1 m proximaal

TABEL 21. De gehalten van enkele mineralen in de rantsoenen en in de duodenuminhoud, de ileuminhoud en in de ultrafiltraten van de darminhoud van een schaap en een koe, voorzien van een duodenum- en een ileumfistel.

		ongedroogde verse darminhoud per kg						ultraftraat per l				
		d.s.	Na	K	Ca	Mg	P	Na	K	Ca	Mg	P
		%	meq	meq	meq	meq	mmol	meq	meq	meq	meq	mmol
schaap Lientje												
duod.	3-11-65	5,35	84,1	23,1	11,2	6,5		86,3	25,2	11,4	6,0	
ileum	3-11-65	6,89	144,4	10,9	17,8	9,3		142,6	10,1	3,2	3,2	
duod.	24-11-65	4,08	80,8	27,0	9,2	5,3		79,8	29,1	9,4	4,4	
ileum	24-11-65	6,53	132,5	16,4	18,8	8,4		135,5	16,1	3,6	3,3	
duod.	6- 1-66	3,81	77,8	24,0	15,6	7,5		77,3	24,5	14,8	6,3	
ileum	6- 1-66	6,09	141,0	9,2	37,2	18,0		135,3	8,6	4,0	7,2	
duod.	25- 1-66	4,20	83,6	25,1	17,5	8,7	17,0	85,1	25,2	16,0	7,8	11,6
ileum	25- 1-66	5,59	140,7	11,0	28,7	14,4		136,9	10,4	2,9	4,3	
duod.	22- 2-66	4,56	76,1	23,1	30,1	13,2		85,5	25,9	28,2	13,6	21,4
ileum	22- 2-66	7,88	136,4	14,2	60,6	28,4	41,7	132,2	13,3	3,4	3,9	
duod.	5- 5-66	3,01	69,7	34,4	11,1	3,8	13,4	73,4	34,9	10,2	3,8	7,4
duod.	12- 5-66	3,22	81,6	31,8	12,6	4,3	16,4	80,2	30,4	10,1	4,1	12,0
koe Lamkje												
duod.	10- 2-66	3,18	71,4	31,1	13,3	7,5	10,2	74,1	30,8	13,2	7,2	7,1
ileum	10- 2-66	7,24	93,3	44,8	52,1	31,8		93,9	45,1	5,9	11,6	
duod.	1- 3-66	3,20	79,6	26,3	14,9	7,8	10,8	79,8	26,2	12,3	7,2	8,4
ileum	1- 3-66	8,05	99,4	41,0	58,1	41,6	31,2	95,6	39,2	7,0	16,0	
duod.	18- 3-66	3,18	78,9	22,8	18,5	9,0	13,4	79,8	23,2	16,5	8,5	10,5
ileum	18- 3-66	8,76	90,0	38,7	73,8	43,9	33,2	82,3	38,9	10,4	25,5	1,8
duod.	5- 4-66	3,08	78,8	28,3	10,6	6,1	9,1	81,4	28,3	10,1	4,4	6,4
ileum	5- 4-66	6,87	96,0	46,9	37,3	25,2	20,0	85,8	41,1	4,0	6,4	1,6
duod.	5- 5-66	2,94	74,7	32,5	10,1	4,2	6,5	72,6	33,4	8,9	3,9	5,4
ileum	5- 5-66	6,12	72,9	61,6	38,8	22,4	27,3	70,6	60,0	3,7	6,0	2,0
duod.	12- 5-66	2,92	80,8	34,6	9,7	3,5	7,8	72,6	33,6	8,4	3,3	5,3
ileum	12- 5-66	7,30	31,8	93,0	43,4	22,9	22,7	31,7	88,5	7,1	12,4	1,7

van de blinde darm in het ileum een gelijke kanule aangebracht. Ten slotte werd de operatiewond zorgvuldig gesloten.

Op 10-1-1966 werd bij de koe Lamkje 13 een overeenkomstige operatie uitgevoerd, thans echter bij het staande dier onder locaalanaesthesie (xylocaine). De kanulen waren weer gemaakt uit een buis van hard polyvinylchloride, maar nu met een inwendige diameter van 12 mm.

De genezing der dieren verliep voorspoedig. Ongeveer een maand na de operatie werden de eerste proeven met deze fisteldieren genomen.

De proeven

Aan het schaap Lientje en de koe Lamkje 13, beide dus voorzien van een duodenum- en een ileumfistel, werden achtereenvolgens uiteenlopende rantsoenen verstrekt. Door de verhouding van ruwvoeder en krachtvoeder te variëren

Contents of several minerals in the rations and in the duodenal contents, the ileal contents and in the ultrafiltrates of gut contents of a sheep and a cow with fistulas in the duodenum and in the distal ileum.

Ultrafiltraat per l			ultrafiltreerbaar; % van totaal			rantsoen g/100 g d.s.					rantsoen
NH ₃	pH	el.gel.	Ca	Mg	P	Na	K	Ca	Mg	P	
meq	100 μmho					%	%	%	%	%	
7,6	4,46		97	88		0,24	1,78	0,40	0,17	0,29	hooi ad libitum
6,9	8,14		17	32							
9,3			99	80		0,24	1,78	0,40	0,17	0,29	hooi ad libitum
5,1			18	37							
4,7	4,21	116	92	82		0,33	1,52	0,61	0,23	0,41	800 g hooi en
7,9	8,40	114	10	39							400 g brokken
8,7	4,44	122	89	87	66	0,31	1,60	0,60	0,24	0,41	800 g hooi en
10,2	8,15	117	10	29							400 g brokken
12,6	4,37	137	91	100		0,47	1,57	0,89	0,31	0,64	400 g hooi en
12,4	8,12	116	5	13							800 g brokken
12,0	4,70	117	90	98	55	0,10	3,40	0,50	0,14	0,47	gras van 2-5-66 af
16,2	5,74	124	76	93	71	0,09	2,91	0,48	0,13	0,39	gras
7,5			97	94	69	0,38	2,34	0,60	0,26	0,48	10 kg hooi en
18,0			11	34							2 kg koek
11,2	4,58	122	81	90	76	0,41	2,08	0,69	0,27	0,54	10 kg hooi en
12,3	8,10	108	11	36							5 kg koek
5,7	4,52	129	87	93	77	0,46	1,62	0,87	0,30	0,55	5 kg hooi en
16,5	8,17	117	13	54	6						8,2 kg koek
10,8	4,83	116	92	71	69	0,34	2,54	0,50	0,24	0,44	12,9 kg hooi
15,0	8,26	103	10	24	8						
6,9	4,78	96	86	91	81	0,10	3,40	0,50	0,14	0,47	gras sinds
19,1	8,41	97	9	25	7						2-5-66
5,43	4,78	110	85	92	65	0,09	2,91	0,48	0,13	0,39	gras
16,9	7,77	120	16	51	7						

werden rantsoenen verkregen met sterk uiteenlopende gehalten aan mineralen en ruwe celstof (tabel 21). Lamkje kreeg, behalve de in tabel 21 opgegeven rantsoenen, ook nog twee maal daags 25 g Cr₂O₃-papier met in totaal 15,8 g Cr₂O₃ per dag. Van 30-3-1966 af kreeg zij bovendien twee maal daags 100 g P.E.G.

Na een voorperiode van ten minste 10 dagen werden de inhoud van het duodenum en die van het ileum der proefdieren in de loop van de dag bemonsterd. Daartoe werden de fistels door middel van een flexibele slang verbonden met een kunststoffles, waarin een geringe onderdruk werd onderhouden.

Bij het schaap duurde het verzamelen van een monster darminhoud van ongeveer 600 ml uit het duodenum 1 à 2 uren; het nemen van een monster van deze grootte uit het ileum vergde niet minder dan 3 à 4 uren. Daarom werd bij het schaap met één monster per 24 uur uit elke fistel volstaan.

Bij de koe Lamkje verliep de monsterneming vlotter. Daarom werd hier vier

maal per dag een hoeveelheid chymus van ongeveer 200 ml uit de duodenum- en uit de ileumfistel verzameld. Het eerste monster werd steeds 's morgens vóór het voeren genomen en de andere monsters volgden met ten minste twee uren tussenruimte. De vier monsters werden samen gemengd tot een dagmonster.

Van een gedeelte van elk dagmonster van schaap of koe werd nog dezelfde dag een ultrafiltraat bereid, terwijl een ander gedeelte diende voor de analyse. De uitkomsten zijn opgenomen in tabel 21. De gehalten aan Cr_2O_3 en aan P.E.G. in de chymus zullen worden besproken in 3.7.2.

De activiteit van de calcium- en van de magnesiumionen in de ultrafiltraten is vergeleken met die van standaardoplossingen. De uitkomsten daarvan zullen in de volgende paragraaf (3.5) worden vermeld.

Bespreking

De uitkomsten der proeven, vermeld in tabel 21, tonen naast opvallende overeenkomsten ook duidelijke verschillen. Zo waren de Na-gehalten in de duodenuminhoud op de verschillende rantsoenen en bij de twee dieren steeds ongeveer gelijk en hetzelfde gold van de K-gehalten. In de ileuminhoud daarentegen werden bij de koe steeds aanzienlijk lagere Na-gehalten en veel hogere K-gehalten gevonden dan bij het schaap. Dit verschil blijkt ook uit de gemiddelden in de overzichtstabel 22. In het ileum van de koe was het Na-gehalte in de ongedroogde chymus slechts weinig hoger dan de helft van dat bij het schaap; het K-gehalte daarentegen was bij de koe gemiddeld niet minder dan vier maal zo hoog.

Ook de Ca- en de Mg-gehalten in de duodenuminhoud waren bij de twee herkauwers weinig verschillend; maar in het ileum van de koe waren deze gehalten achtereenvolgens gemiddeld $1\frac{1}{2}$ en twee maal zo hoog als die bij het schaap.

Merkwaardigerwijze was het d.s.-gehalte in de duodenuminhoud bij de koe bijna steeds duidelijk lager dan dat bij het schaap (ongeveer 3 tegen 4% d.s.). Rekent men de gehalten der mineralen in de ongedroogde chymus om in de gehalten in de droge stof (tabel 22), dan verandert dit echter maar weinig aan de zojuist vermelde uitkomsten betreffende de gehalten in de ongedroogde stof.

De zuurtegraden der ultrafiltraten (tabel 21) waren bij de twee proefdieren ongeveer gelijk: in het duodenumultrafiltraat van het schaap gemiddeld 4,64 en bij de koe 4,70. In de ultrafiltraten van de ileuminhoud werden pH-waarden gemeten van gemiddeld 8,20 resp. 8,14. Hierbij merken wij op, dat deze zuurtegraden gemeten zijn na het ultrafiltreren. Daardoor zijn de vermelde pH-waarden zeer waarschijnlijk hoger dan de waarden die gevonden zouden zijn, wanneer de metingen rechtstreeks in de verse darminhoud zouden zijn uitgevoerd. MASSON en PHILLIPSON (1952) vermeldten voor de duodenuminhoud van schapen zelfs pH-waarden van 2,3 tot 4,2, terwijl HARRISON en HILL (1962) tot een gemiddelde waarde van $3,28 \pm 0,10$ kwamen, eveneens bij schapen.

Het elektrisch geleidingsvermogen, ten slotte, was bij het schaap een weinig hoger dan bij de koe (tabel 21). In honderdtallen micromho's uitgedrukt, bedroeg het verschil in het duodenumultrafiltraat $8,6 \pm 6,1$ en in het ileumultrafiltraat $6,7 \pm 7,0$. In geen der twee gevallen was er dus sprake van significantie.

TABEL 22. Overzicht van enkele uitkomsten der proeven met een schaap en een koe, voorzien van fistels in het duodenum en het ileum.

Survey of some of the results of the experiments with a sheep and a cow with fistulas in the duodenum and distal ileum.

	Na meq		K meq		Ca meq		Mg meq		P mmol		elekt. gel. vern. (10 ⁶ Ωmho's)		droge stof (%)	
	schaap	koe	schaap	koe	schaap	koe	schaap	koe	schaap	koe	schaap	koe	schaap	koe
In 1000 g ongedroogde stof														
duodenum	79,1	77,4	26,9	29,3	15,3	12,8	7,0	6,4	(15,6)	9,6			4,03	3,08
ileum	139,0	80,6	12,3	54,3	32,6	50,6	15,7	31,3	(41,7)	26,9			6,60	7,39
In 100 g droge stof														
duodenum	196,1	251,0	66,8	94,9	38,0	41,7	17,5	20,6	(38,7)	31,2				
ileum	210,7	109,0	18,7	73,5	49,5	68,4	23,8	42,4	(63,2)	36,4				
In 1000 ml ultrafiltraat														
duodenum	81,1	76,7	27,9	29,2	14,3	11,6	6,6	5,8	(13,1)	7,2	123,2	114,6		
ileum	136,5	76,6	11,7	52,1	3,4	6,4	4,4	13,0	—	1,8	115,7	109,0		
% ultrafiltreerbaar van totaal in mest														
duodenum					91	88	90	88	(64)	73				
ileum					12	12	30	37	—	7				

Letten wij vervolgens op de gehalten aan de minerale bestanddelen in de duodenum- en ileuminhoud enerzijds en op die in de proefrantsoenen anderzijds, dan blijkt, dat er tussen deze gehalten een positieve correlatie bestond. Alleen het Na vormde hierop een uitzondering. De gehalten aan Na in de darminhoud waren nl. in het algemeen zeer constant. Zelfs toen enkel gras gevoerd werd, waarin slechts 0,09% à 0,10% Na in de droge stof voorkwam, was het Na-gehalte in de duodenuminhoud na 12 dagen niet lager dan op de rantsoenen met ca. 0,45% Na. In het ileum echter daalde bij de koe het Na-gehalte, dat op de andere rantsoenen steeds ca. 95 meq/l bedroeg, tot 32 meq/l op het grasrantsoen. Blijkbaar was de Na-resorptie in de dunne darm hier sterk versneld, vermoedelijk om voldoende Na beschikbaar te stellen voor de secretie van speeksel, maagsap, gal, pancreassap en van dunne-darm-sap, in het bijzonder sap van Brunnerse kliertjes.

In de figuren 5 en 6 zijn de gehalten aan Ca en aan Mg in resp. verse chymus en d.s. van chymus uit de duodenum- en ileuminhoud van het schaap en de koe uitgezet tegen de gehalten in de rantsoenen. Uit deze figuren blijkt duidelijk de vrij nauwe betrekking tussen de gehalten dezer mineralen in het rantsoen en die in de duodenuminhoud.

Voor de ileuminhoud was de samenhang minder duidelijk, zowel bij het Ca als bij het Mg; maar beschouwt men in figuur 5 de gehalten aan calcium in de ileuminhoud van het schaap en die van de koe afzonderlijk, dan is de correlatie zeer duidelijk.

In de grafieken betreffende het magnesium in de ileuminhoud bleek een drietal punten een bijzondere plaats in te nemen. Deze punten geven de Mg-gehal-

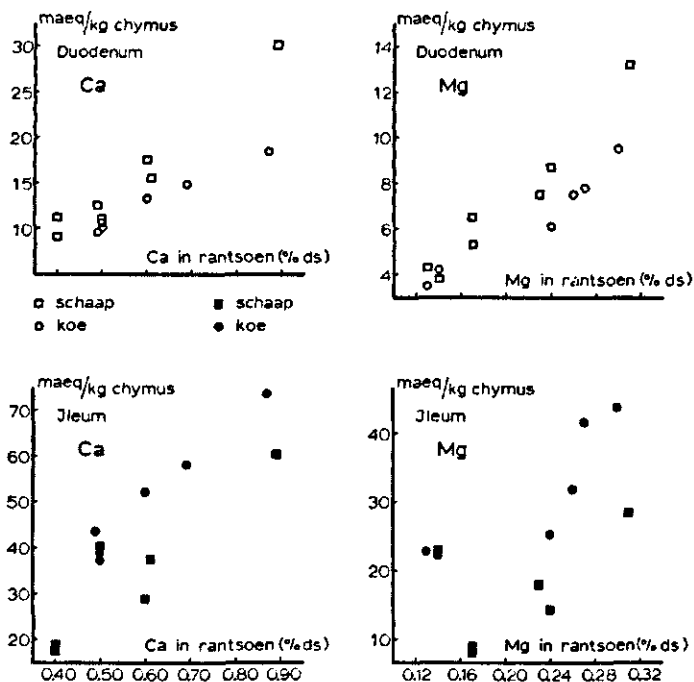


FIG. 5. Verband tussen de gehalten aan Ca en Mg in het rantsoen en de gehalten aan deze mineralen per kg chymus uit het begin (duodenum) en het einde van de dunne darm (ileum) van een fistelschaap en een -koe.

Relation between the contents of Ca and Mg in the rations and in the chyme from the duodenum and distal ileum of a fistulated sheep and -cow.

ten bij het schaap en de koe weer, toen deze dieren enkel gras kregen met slechts 0,13% Mg. Blijkbaar waren de Mg-gehalten in de ileuminhoud toen hoger dan op grond van het Mg-gehalte in het voeder mocht worden verwacht. Oorzaak daarvan kan zijn een slechte resorptie van het Mg uit het gras en voorts de hoge verteringscoëfficiënt van dit voeder. Een hoge verteringscoëfficiënt kan nl. aanleiding geven tot een geringe totale hoeveelheid chymus, waarover het niet geresorbeerde Mg is verdeeld in een verhoogde concentratie.

Dat de resorptie van het Mg op het grasrantsoen inderdaad slechts gering is geweest, lijkt waarschijnlijk, omdat de gehalten aan ultrafilterbaar Mg in de duodenuminhoud zowel bij het schaap als bij de koe zeer laag waren. Voorts vonden wij in vroegere proeven met schapen dat uit Thiry-Vella-fistels alleen dan Mg werd geresorbeerd, wanneer het gehalte in de proefoplossingen hoger was dan 3 meq per l (CARE en VAN 'T KLOOSTER, 1965). Wanneer dit ook geldt voor koeien, dan zal er praktisch geen netto-resorptie van Mg in het begin van de dunne darm hebben plaats gevonden.

Ook het bloedonderzoek wees op een slechte resorptie van het Mg uit het gras. Na de overgang op dit voeder werd nl. zowel bij het schaap als bij de koe een daling van het serummagnesiumgehalte vastgesteld: bij het schaap van

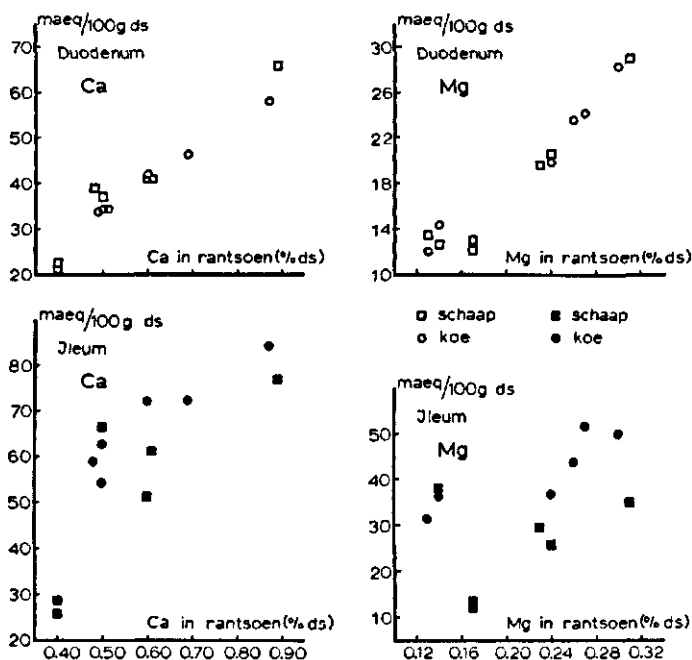


FIG. 6. Verband tussen de gehalten aan Ca en Mg in het rantsoen en de gehalten aan deze mineralen per 100 g droge stof van darminhoud uit het begin (duodenum) en het einde van de dunne darm (ileum) van een fistelschaap en een -koe.

Relation between the contents of Ca and Mg in the rations and in 100 g d.m. of chyme from the duodenum and distal ileum of a fistulated sheep and -cow.

2,32 mg% vóór de overgang op 2-5-1966 tot 1,90 mg% op 5-5-1966 en tot 1,78 mg% op 10-5-1966 en bij de koe van 1,98 mg% op 2-5-1966 tot 1,16 mg% op 5-5-1966 en tot 1,01 mg% op 6-5-1966. De gehalten aan calcium in het bloedplasma bleven ongeveer gelijk.

Voor de resorptie der mineralen zijn de gehalten in de ultrafiltraten van meer belang dan de totale gehalten. In de duodenuminhoud was er tussen de totale en de ultrafiltreerbare gehalten, zowel bij het schaap als bij de koe, gemiddeld weinig verschil, omdat niet alleen van de alkalimetalen, maar ook van de aardalkalimetalen en de fosfor zeer hoge percentages van de totale hoeveelheden ultrafiltreerbaar waren. Wij becijferden nl. (tabel 21), dat gemiddeld 91 % van het Ca en 90 % van het Mg in de duodenuminhoud van het schaap ultrafiltreerbaar waren; bij de koe bleken in dit darmgedeelte 88 % van het Ca, eveneens 88 % van het Mg en 73 % van de P ultrafiltreerbaar te zijn.

Terwijl dus in de duodenuminhoud de gehalten aan Ca en aan Mg der ultrafiltraten en de totale gehalten gemiddeld weinig uiteenliepen, werden in de ileuminhoud grote verschillen gevonden. Hier was het totale gehalte aan Ca gemiddeld 42,4 meq per kg ongedroogde chymus; het gemiddelde ultrafil-

treerbare Ca-gehalte daarentegen slechts 5,0 meq per l ultrafiltraat. Voor het Mg waren deze gehalten respectievelijk 24,2 en 9,1 meq.

In de ileuminhoud van schaap en koe liepen de ultrafiltreerbare gehalten aan Ca en aan Mg sterk uiteen. Het gehalte aan Ca in het ultrafiltraat was bij de koe nl. twee maal zo hoog als bij het schaap (6,4 tegen 3,4 meq/l) en het gehalte aan Mg zelfs drie maal zo hoog (13,0 tegen 4,4 meq/l). Aangezien echter de gehalten per kg ongedroogde chymus bij de koe eveneens hoger waren, bleken de percentages ultrafiltreerbaar toch ongeveer gelijk te zijn, nl. bij de koe en het schaap achtereenvolgens 12 en 12 voor het Ca en voorts 37 en 30 voor het Mg.

Vergelijken wij ten slotte nog de Ca-gehalten per l ultrafiltraat van duodenum- en ileuminhoud, dan blijkt, dat deze gehalten voor de ileuminhoud bij beide dieren aanmerkelijk lager waren dan voor de duodenuminhoud. Bij het Mg waren de gehalten in het ileumultrafiltraat bij het schaap eveneens lager; maar bij de koe zagen wij een sterke stijging van 5,8 meq/l in het ultrafiltraat der duodenuminhoud tot 13,0 meq/l in dat van de ileuminhoud. De betekenis van dit verschil is ons echter niet duidelijk.

Samenvatting

Aan een schaap en een koe, die voorzien waren van fistels in het begin en in het einde van de dunne darm (duodenum en ileum), werden rantsoenen verstrekt met uiteenlopende gehalten aan Na, K, Ca, Mg en P.

Op deze rantsoenen waren de gehalten der genoemde mineralen in de ongedroogde duodenuminhoud der twee dieren ongeveer gelijk. In de ileuminhoud daarentegen waren bij het schaap de Na-gehalten hoger en de K-, Ca- en Mg-gehalten lager dan bij de koe. De duodenuminhoud van het schaap had een gehalte aan droge stof van gemiddeld 4,03% en die van de koe een gehalte van gemiddeld 3,08%. Bij het ileum was het juist omgekeerd: gemiddeld 6,60% droge stof in de ileuminhoud van het schaap en 7,39% in die van de koe. Rekent men de zoëven genoemde gehalten der mineralen in de ongedroogde chymus om in de gehalten in de droge stof, dan verandert dit maar weinig aan de zojuist vermelde uitkomsten.

De pH der ultrafiltraten was bij de twee dieren steeds ongeveer gelijk, nl. gemiddeld 4,7 in de duodenumultrafiltraten en 8,2 in de ileumultrafiltraten. Het verschil tussen de dieren voor het elektrisch geleidingsvermogen van de chymus was niet significant.

Tussen de gehalten aan K, Ca en Mg in de rantsoenen enerzijds en die der gelijknamige mineralen in de duodenum- en ileuminhoud anderzijds bleken positieve correlaties te bestaan; bij het Na werd zo'n correlatie echter niet gevonden. Bij de ileuminhoud waren de correlaties voor het K, Ca en Mg minder sterk positief dan die bij de duodenuminhoud. Van het Ca en Mg in de duodenuminhoud bleek ongeveer 90% ultrafiltreerbaar te zijn, van de P gemiddeld 73%. In de ileuminhoud daarentegen was slechts 12% van het Ca, 34% van het Mg en 7% van de P ultrafiltreerbaar. Deze lage waarden moeten waarschijnlijk worden toegeschreven aan de hoge pH in dit darmgedeelte.

Op een rantsoen, bestaande uit enkel gras, was bij beide dieren het Mg-gehalte

in de duodenuminhoud zó laag, dat er nauwelijks netto-resorptie van Mg verwacht kon worden. Dat deze resorptie inderdaad gering was, kan zeer waarschijnlijk ook worden afgeleid uit de daling van de serummagnesiumgehalten der proefdieren na de overgang op gras.

3.5 DE FYSISCH-CHEMISCHE ACTIVITEIT VAN HET CALCIUM EN HET MAGNESIUM IN CHYMUSULTRAFILTRATEN

Zoals in de paragrafen 1.4 en 1.5 werd uiteengezet hangt de resorptie van het Ca en het Mg af van de gehalten dezer elementen in het darmvocht. In resorptieproeven worden doorgaans proefoplossingen gebruikt, waarin deze elementen geheel of nagenoeg geheel als ionen aanwezig zijn. Bij in-vitro-proeven met darmzakjes (zie paragraaf 1.4) van ratten, vonden SCHACHTER et al. (1960a), dat het actieve transport van Ca door de wand van het proximale gedeelte der dunne darm een transport van ionen is. Na drie uren incuberen bleek de verhouding tussen het Ca-gehalte in de vloeistof aan de serosakant en de mucosakant ongeveer 4:1 te zijn. Van het Ca in de vloeistof aan de serosakant was 70 tot 80% in de ionvorm. Verder is gebleken, dat stoffen die Ca binden, zoals oxaalzuur, citroenzuur en complexon (E.D.T.A.) de resorptie van het Ca uit de dunne darm van ratten verminderden (THOMAS et al., 1954). Ook LENGEMAN et al. (1959) vonden in proeven met ratten, dat het niet voldoende was, wanneer het Ca in opgeloste vorm aanwezig was, maar dat het tevens in ionvorm moest zijn om geresorbeerd te kunnen worden.

Het is niet bekend in welke vorm het Mg moet verkeren om geresorbeerd te kunnen worden. Algemeen wordt echter aangenomen, dat het Mg, evenals het Ca, in de ionvorm moet zijn om van het darmlumen naar het bloed over te kunnen gaan.

Lang niet al het Ca en Mg in de chymus is echter in ionvorm aanwezig. Zo zal het niet-ultrafiltreerbare Ca en Mg op één of andere wijze gebonden zijn, behoudens een klein gedeelte, dat ten gevolge van Donnan-evenwichten buiten het ultrafiltraat werd gehouden. Maar ook van het ultrafiltreerbare Ca en Mg is mogelijk nog een deel gebonden, b.v. aan citroenzuur. Verschillende onderzoekers hebben aangenomen, dat het Ca en het Mg in het ultrafiltraat van darminhoud in de ionvorm voorkomt, echter zonder daarnaar een onderzoek in te stellen. Mede naar aanleiding van de slechte resorptie van het Mg uit jong gras, hebben wij een onderzoek ingesteld naar de vorm waarin het Ca en het Mg voorkomen in chymus-ultrafiltraten van herkauwers op verschillende rantsoenen.

In paragraaf 2.2 hebben wij een methode beschreven waarmee de activiteit van het Ca en het Mg in het darmvocht of ultrafiltraat daarvan kon worden vergeleken met de activiteit in proefoplossingen. Een kleine hoeveelheid voorbeladen kunsthars (kationenwisselaar, Dowex 50) werd in evenwicht gebracht met het te onderzoeken ultrafiltraat. Na de equilibrering werd de hars gewassen en geëluëerd met zoutzuur. Het eluaat werd opgevangen in kolfjes van 100 ml en geanalyseerd. Vervolgens werden proefoplossingen gemaakt, meestal 3, met dezelfde gehalten aan Na, K en NH_3 als het onderzochte ultrafiltraat, maar met la-

gere en variërende gehalten aan Ca en Mg. Andere porties van de voorbeladen hars werden met deze oplossingen in evenwicht gebracht. Na wassen en eluëren werden de verkregen eluaten geanalyseerd. (Voor een bespreking van deze methode verwijzen wij naar 2.2.)

De samenstelling van de eluaten der proefoplossingen en die van de bijbehorende chymusultrafiltraten werden vervolgens met elkaar vergeleken. Wanneer het eluaat van een ultraf filtraat en van één der bijbehorende proefoplossingen dezelfde gehalten aan Na, K, Ca, Mg en NH_3 hadden, dan moest de activiteit van het Ca en van het Mg in het ultraf filtraat en in de proefoplossingen gelijk zijn. Zo'n oplossing werd iso-actieve oplossing genoemd. Meestal echter weken de eluaten der proefoplossingen qua samenstelling meer of minder sterk af van het eluaat van het te onderzoeken ultraf filtraat. Om dan toch de samenstelling van de iso-actieve oplossing te leren kennen, stonden wij voor de keuze door te gaan met het samenstellen en proberen van nieuwe proefoplossingen óf de samenstelling van de reeds met de hars geëquilibreerde oplossingen te corrigeren aan de hand van de verkregen uitkomsten. Omdat uitvoering van de eerste mogelijkheid zeer veel tijd en werk zou vergen werd besloten tot het opstellen van correctieformules. Door prof. dr. E. BROUWER werden uit de regressies van de percentages van de verschillende mineralen in de proefoplossingen t.o.v. de percentages van die bestanddelen in de bijbehorende eluaten, regressieformules afgeleid. Aanvankelijk werden multiple regressies berekend waarin de invloed van de verschillende mineralen in de proefoplossingen op de samenstelling van de eluaten werd vastgelegd. Het bleek echter dat met enkelvoudige regressieformules kon worden volstaan. Deze luiden:

$$Ca_1 = \overline{Ca}_1 + 0,218 (Ca - \overline{Ca}) \quad (1)$$

en
$$Mg_1 = \overline{Mg}_1 + 0,214 (Mg - \overline{Mg}) \quad (2)$$

waarin Ca_1 en Mg_1 de percentages van het Ca en het Mg in de proefoplossingen en \overline{Ca} en \overline{Mg} de percentages van de gehalten in de bijbehorende eluaten zijn. \overline{Ca}_1 en \overline{Mg}_1 zijn de gemiddelde percentages van de gehalten in de proefoplossingen, die behoren bij één chymusultraf filtraat en \overline{Ca} en \overline{Mg} de gemiddelde percentages van de eluaten der proefoplossingen, die telkens behoren bij één der 24 ultrafiltraten. De formules (1) en (2) werden berekend uit 64 waarnemingen met proefoplossingen. De regressieformules (1) en (2) hebben derhalve enkel betrekking op de proefoplossingen en hun eluaten.

Om een indruk te krijgen van de nauwkeurigheid waarmee Ca_1 en Mg_1 konden worden berekend, werden de formules (1) en (2) toegepast op 48 proefoplossingen en hun eluaten. Voor Ca_1 werd met formule (1) een gemiddelde waarde berekend van 6,13 terwijl het gemiddelde percentage van het Ca in de proefoplossingen 6,11 bedroeg. Voor Mg_1 werd met formule (2) 4,17 verkregen tegen een gemiddelde waarde van 4,10 in de proefoplossingen. De afzonderlijke waarnemingen van Ca_1 gaven een gemiddelde afwijking te zien van $-0,07 \pm 4,82\%$ van de waarden in de overeenkomstige proefoplossingen, terwijl voor Mg_1 een afwijking werd berekend van $0,37 \pm 5,06\%$.

Het berekenen van de gehalten aan Ca en Mg in de iso-actieve oplossingen van een aantal chymusultrafiltraten uit de proeven die in 3.4 zijn besproken, ging als volgt in zijn werk. Eerst werden de Ca_1 en de Mg_1 van elk der oplossingen berekend met de formules (1) en (2). Daartoe werden voor $\overline{\text{Ca}}_1$ en $\overline{\text{Mg}}_1$ in die formules de gemiddelde percentages ingevuld van het Ca en het Mg in de proefoplossingen die behoorden bij één ultrafiltraat en voor $\overline{\text{Ca}}$ en $\overline{\text{Mg}}$ de gemiddelde percentages van de aardalkaliën in de eluaten van die oplossingen. De symbolen Ca en Mg in de formules werden vervangen door de percentages van het calcium en het magnesium in het eluaat van het bijbehorende ultrafiltraat, waarna de bijbehorende Ca_1 en Mg_1 met (1) en (2) werden berekend, waarmee de percentages van Ca en Mg in de iso-actieve oplossingen waren gevonden.

Uit de aldus berekende percentages van het Ca en het Mg en de som der kationen in de ultrafiltraten werden de gehalten aan de aardalkaliën in de iso-actieve oplossingen berekend. Een kleine correctie van de som der mineralen in de ultrafiltraten was nog nodig, omdat de gehalten aan Ca en Mg in die ultrafiltraten steeds hoger waren dan de gehalten in de iso-actieve oplossingen. De correctie bestond in een vermindering van de som met het verschil der gehalten aan Ca en Mg in de ultrafiltraten en de gehalten in de bijbehorende iso-actieve oplossingen.

In tabel 23 zijn de gehalten aan Ca en Mg in de iso-actieve oplossingen van 24 ultrafiltraten vermeld, zowel in meq/l als in procenten van de gehalten in de ultrafiltraten. De gehalten aan Na, K en NH_3 van deze oplossingen zijn, zoals gezegd, gelijk genomen aan die gehalten in de ultrafiltraten. Om duidelijk te laten uitkomen, dat wij de activiteit van het Ca en het Mg in de ultrafiltraten vergeleken hebben met de activiteit in de iso-actieve oplossingen, zijn de gehalten aan die bestanddelen geplaatst naast de gehalten in de ultrafiltraten. De ultrafiltraten waren bereid van duodenum- en ileuminhoud, afkomstig van een schaap en een koe op verschillende rantsoenen (zie 3.4). Wij gaan thans over tot de bespreking van de uitkomsten.

In de iso-actieve oplossingen van de duodenumultrafiltraten waren de gehalten aan Ca en aan Mg gemiddeld ongeveer 90% van de gehalten in de duodenumultrafiltraten. De activiteit van het Ca en het Mg in die ultrafiltraten bleek derhalve maar weinig kleiner te zijn dan die in de proefoplossingen met gelijke gehalten aan Ca, Mg, Na, K en NH_3 en met alleen Cl als anion. Een duidelijk verschil in activiteit werd gevonden tussen de ileumultrafiltraten en de proefoplossingen met gelijke gehalten aan de verschillende kationen maar met chloor als enig anion. In de iso-actieve oplossingen was het gehalte aan Ca ongeveer 63% van dat in het ultrafiltraat; het gehalte aan Mg was nog ongeveer 78% van het gehalte in het ultrafiltraat.

Dat de activiteit van het Ca en het Mg in de ultrafiltraten kleiner werd bevonden dan in de proefoplossingen, is niet verwonderlijk. In de proefoplossingen waren het Na, K, Ca, Mg en NH_3 aanwezig als chloriden. Aangenomen mag worden, dat deze zouten zich praktisch geheel in ionen splitsen. In het ultra-

TABEL 23. De gehalten aan Ca en Mg in de iso-actieve oplossingen van duodenum- en ileumultrafiltraten vergeleken met de gehalten in die ultrafiltraten. Verder is nog de samenstelling van de eluaten der ultrafiltraten vermeld.

monster	samenstelling ultrafiltraten meq/l					
	pH	Na	K	Ca	Mg	NH ₃
duodenum						
Lamkje 10-2		74,1	30,8	13,2	7,2	7,6
Lamkje 1-3	4,58	79,8	26,2	12,3	7,2	10,9
Lamkje 17-3	4,52	79,8	23,2	16,5	8,5	5,7
Lamkje 5-4	4,83	78,0	28,3	9,5	4,4	10,8
Lamkje 6-5	4,78	73,1	32,7	8,9	4,0	7,0
Lamkje 13-5	4,78	72,5	33,6	8,4	3,3	5,4
Truusje 28-10	4,21	79,1	31,6	11,1	5,8	7,8
Lientje 3-11	4,46	86,3	25,2	11,2	6,1	7,6
Lientje 24-11		79,4	29,1	9,1	5,9	9,3
Lientje 6-1	4,20	77,4	24,5	14,9	6,3	4,7
Lientje 25-1	4,44	85,0	25,2	16,1	7,8	8,7
Lientje 23-2	4,37	85,8	25,9	28,2	13,6	12,6
Lientje 7-5	4,70	73,4	34,9	10,2	3,8	12,0
Lientje 12-5	4,74	80,2	30,4	10,2	4,1	16,2
ileum						
Lamkje 10-2	8,10	93,9	45,1	5,9	11,5	18,0
Lamkje 17-3	8,17	82,3	38,9	10,4	25,5	16,5
Lamkje 5-4	8,26	85,8	41,1	4,0	6,4	15,0
Lamkje 6-5	8,41	69,6	60,0	3,6	6,0	19,1
Lamkje 13-5	7,77	31,7	88,5	7,1	12,4	16,9
Truusje 28-10	8,43	134,0	25,0	3,7	3,4	9,4
Lientje 3-11	8,14	142,6	10,1	3,3	3,2	6,9
Lientje 24-11	8,15	136,0	16,1	3,6	4,1	5,1
Lientje 6-1	8,40	135,4	8,6	3,9	7,2	7,9
Lientje 23-2	8,12	132,2	13,2	3,4	7,7	12,4

* een gedeelte van de hars is verloren gegaan tijdens het equilibreren.

filtraat komen echter naast sterke ook zwakke elektrolyten voor (bicarbonaat, primair en secundair fosfaat en organische zuren), welke niet geheel gedissocieerd behoeven te zijn.

Verder herinneren wij er aan, dat de activiteit van de ionen afneemt wanneer de 'ionensterkte' der oplossingen stijgt. De ionensterkte wordt berekend door de concentratie van elk ion (in gramionen/l) te vermenigvuldigen met het kwadraat van de valentie van het ion; deze gehalten worden opgeteld en gedeeld door 2. Bij dit begrip wordt rekening gehouden met het feit, dat meerwaardige ionen (zowel kationen als anionen) verhoudingsgewijs een veel sterkere invloed op de grootte van de ionensterkte hebben dan de eenwaardige. Nu hebben wij in onze proefoplossingen alleen eenwaardige anionen, terwijl in de ultrafiltraten ook

The contents of Ca and Mg in the iso-active solutions of duodenal- and ilealultrafiltrates, compared with the contents in these ultrafiltrates. The composition of the eluates of the ultrafiltrates is also given.

samenstelling eluaat van 1 g hars meq						gehalten in de 'iso-actieve' opl.			
						in meq/l		in % v.d. gehalten in de ultrafiltraten	
Na	K	Ca	Mg	NH ₃	Totaal	Ca	Mg	Ca	Mg
0,260	0,306	0,914	0,184	0,053	1,72	11,23	6,15	85	85
0,304	0,270	0,879	0,162	0,076	1,69	10,21	5,57	83	78
0,274	0,228	0,952	0,176	0,040	1,67	14,01	6,85	85	81
0,345	0,314	0,816	0,165	0,078	1,72	7,24	4,16	80	95
0,310	0,342	0,789	0,126	0,059	1,63	7,50	3,24	84	82
0,300	0,358	0,838	0,112	0,041	1,65	8,13	2,90	97	88
0,327	0,335	0,844	0,193	0,068	1,77	9,48	5,64	86	97
0,354	0,264	0,914	0,162	0,059	1,75	10,42	5,69	93	93
0,348	0,318	0,903	0,162	0,077	1,81	9,18	5,02	100	85
0,267	0,233	1,046	0,135	0,043	1,72	14,88	5,64	100	90
0,210	0,168	0,694	0,107	0,053	(1,23)*	15,59	7,16	97	92
0,230	0,191	1,030	0,164	0,051	1,67	26,72	12,17	95	90
0,276	0,338	0,860	0,106	0,068	1,65	10,15	3,16	99	83
0,328	0,301	0,810	0,120	0,102	1,66	9,44	3,64	92	89
			(gemiddeld)		1,70			91	88
0,416	0,484	0,437	0,458	0,174	1,97	3,48	10,14	59	88
0,330	0,380	0,490	0,498	0,099	1,80	6,66	21,24	64	83
0,530	0,534	0,369	0,278	0,108	1,82	1,77	4,68	44	73
0,385	0,684	0,411	0,271	0,141	1,89	2,49	5,21	69	86
0,132	0,760	0,532	0,331	0,092	1,85	5,61	9,57	79	77
0,814	0,369	0,511	0,201	0,066	1,96	2,55	2,67	69	78
1,024	0,174	0,494	0,152	0,075	1,92	2,37	2,44	73	81
1,042	0,280	0,404	0,156	0,045	1,93	1,78	2,18	50	54
0,907	0,128	0,466	0,290	0,078	1,87	2,17	5,72	54	80
0,840	0,190	0,416	0,313	0,126	1,88	2,41	5,94	71	77
			(gemiddeld)		1,89			63	78

meerwaardige anionen (SO₄) zullen voorkomen. Daardoor zal de ionensterkte van onze proefoplossingen kleiner zijn geweest dan die van de ultrafiltraten. Wij kunnen hierover echter geen berekeningen uitvoeren, omdat van lang niet alle ionen de concentraties bekend zijn.

De invloed van deze factoren op de activiteit van het Ca en het Mg zal in de zwak zure ultrafiltraten van duodenuminhoud minder groot zijn geweest dan in de zwak alkalische ileumultrafiltraten. In een zuur milieu zullen deze elektrolyten immers nagenoeg geheel in de ionvorm voorkomen, terwijl met name het anorganische fosfaat bijna uitsluitend als primair fosfaat aanwezig zal zijn. In de ileuminhoud daarentegen zal nog een weinig fosfaat als HPO₄-ion aanwezig zijn, dat tweewaardig is. Ook maken eenwaardige chloorionen een veel groter

deel uit van het totaal aantal anionen in de duodenumultrafiltraten dan in de ultrafiltraten van de ileuminhoud. In deze laatste zijn de chloorionen voor een belangrijk gedeelte vervangen door bicarbonaat (VAN WEERDEN, 1959).

Op grond van de hiervóór geformuleerde overwegingen menen wij uit de uitkomsten van onze proeven te mogen besluiten, dat het overgrote deel van de aardalkaliën in de chymusultrafiltraten in de ionvorm aanwezig was. Een uitzondering moet misschien worden gemaakt voor het Ca in de ileumultrafiltraten, waarvan mogelijk een niet geheel onbelangrijk gedeelte gebonden was.

Zoals gezegd werden de ultrafiltraten van tabel 23 verkregen in proefperioden waarin sterk uiteenlopende rantsoenen werden verstrekt. Een invloed van het rantsoen op de activiteit van het Ca en het Mg in de chymusultrafiltraten, uitgedrukt in procenten van de totale gehalten, kon niet worden vastgesteld. Zo was op het gras, dat aanleiding had gegeven tot hypomagnesaemie, het actieve gedeelte van het Ca en van het Mg niet kleiner dan op de verschillende stalrantsoenen. De geringe resorptie van het Mg uit dit gras moet daarom zeer waarschijnlijk voornamelijk worden toegeschreven aan de geringe gehalten van dit element in de chymus.

In tabel 23 werd ook de samenstelling van de ultrafiltraten en hun eluaten vermeld. De som der kationen in de eluaten van de duodenumultrafiltraten bleek gemiddeld ongeveer 10% lager te zijn dan die in de eluaten van de ileumultrafiltraten. Een verklaring voor dit verschil moet waarschijnlijk worden gezocht in de uiteenlopende zuurtegraden van duodenum- en ileumultrafiltraten. Hoewel de gebruikte kationenwisselaar een zeer geringe adsorptieneiging voor H-ionen heeft, hebben die ionen dank zij hun hoge concentratie in de duodenumultrafiltraten mogelijk toch beslag weten te leggen op een gedeelte van de totale adsorptiecapaciteit. Of dit invloed heeft gehad op de hoogte van de berekende gehalten aan Ca en Mg in de iso-actieve oplossingen en zo ja, in welke mate dit het geval is geweest, is zonder het experiment moeilijk te zeggen. Zo er echter al een invloed van is uitgegaan zal deze toch klein zijn geweest, omdat slechts ongeveer 10% van de totale capaciteit van de kationenwisselaar door H-ionen werd bezet.

Vatten wij de uitkomsten van deze proeven samen, dan kan worden besloten, dat de activiteit van het Ca en het Mg in de duodenumultrafiltraten ongeveer 90% was van de activiteit dezer elementen in proefoplossingen met dezelfde gehalten aan kationen. In de ileumultrafiltraten waren deze percentages voor het Ca en het Mg resp. 63 en 78%. De verschillen tussen duodenum- en ileumultrafiltraten konden, zeker voor een belangrijk gedeelte, worden verklaard uit de grote verschillen in pH en anionensamenstelling dezer vloeistoffen. Het werd niet uitgesloten geacht, dat van het Ca in de ileumultrafiltraten nog een klein gedeelte in gebonden toestand aanwezig was.

Wat de resorptie van het Ca en het Mg betreft, geven de verkregen uitkomsten steun aan de opvatting, dat deze mineralen in de ionvorm zijn alvorens zij de darmwand passeren.

Met dit onderzoek naar de fysisch-chemische vorm waarin het Ca en het Mg

in ultrafiltraten van darminhoud voorkomen, werd ons onderzoek naar de toestand van de mineralen in de darminhoud en mest van runderen afgesloten. De uitkomsten die bij dit onderzoek werden verkregen, hebben ons ingelicht over de concentratiegradiënt tussen darminhoud en bloed van het Ca en het Mg. Op de beweging van geladen deeltjes door de darmwand is echter, behalve de concentratiegradiënt, ook het elektrische potentiaalverschil tussen bloed en darminhoud mogelijk van belang. De volgende paragraaf zal daarom gewijd zijn aan het meten van potentiaalverschillen tussen bloed en darminhoud.

3.6 HET ELEKTRISCHE POTENTIAALVERSCHIL TUSSEN BLOED EN DARMLUMEN BIJ EEN KOE

Op de wijze die in hoofdstuk 2 is beschreven, werd door ons het elektrische potentiaalverschil gemeten tussen het bloed en de darminhoud van Lamkje, de koe met een fistel in het duodenum en in het einde van de dunne darm (ileum). De metingen werden verricht in de maanden maart, april en mei van 1966, toen met deze koe een serie voederproeven werd verricht, waarover in 3.4 en in 3.5 verslag is uitgebracht.

De samenstelling van de verstrekte proefrantsoenen is vermeld in tabel 21. Daar de metingen gewoonlijk één dag na het bemonsteren van de darminhoud werden uitgevoerd, geeft de chymus-analyse, opgenomen in tabel 21, tevens een goede indruk van de samenstelling van de darminhoud op de dag van het meten.

De metingen werden uitgevoerd aan het staande dier op de proefstal. Een rubbermat diende als vloerbedekking. Gedurende het meten werd de potentiometer van de Beckman-pH-meter viermaal per minuut afgelezen en wel gedurende 5 min. achtereen. Dit werd herhaald, zodat gewoonlijk meer dan 40 aflezingen werden gedaan.

De verbinding tussen het lumen van het duodenum en een van de calomelelektrodes, welke gevormd werd door een KCl-agar-brug, bleek goed te voldoen. Een zelfde verbinding tussen de ileuminhoud en de andere elektrode echter, liet dikwijls te wensen over. Dit uitte zich nu eens door een geleidelijk teruglopen van de aflezingen tot zeer lage waarden, dan weer door onwaarschijnlijk grote variaties tussen de opeenvolgende waarnemingen. Voor deze storingen hebben wij nog geen bevredigende oplossing gevonden.

Het is mogelijk dat het al of niet aanwezig zijn van chymus in de darm ter plaatse van de meting grote invloed heeft op de hoogte van de aflezing. De chymus-stroom door het einde van de dunne darm is nl. soms vrij lange tijd onderbroken. Bij het bemonsteren van de ileuminhoud moesten wij meermalen een half uur en enkele malen zelfs driekwart uur wachten, voordat de eerste chymus uit de fistel naar buiten stroomde.

Met het oog op het bovenstaande hebben wij de aflezingen slechts dan betrouwbaar geacht, wanneer de opeenvolgende waarden gedurende vijf minuten om een bepaald gemiddelde schommelden. Een geleidelijke daling der waarden werd als niet-fysiologisch beschouwd, terwijl op elkaar volgende, zeer grote schommelingen werden toegeschreven aan slechte verbindingen.

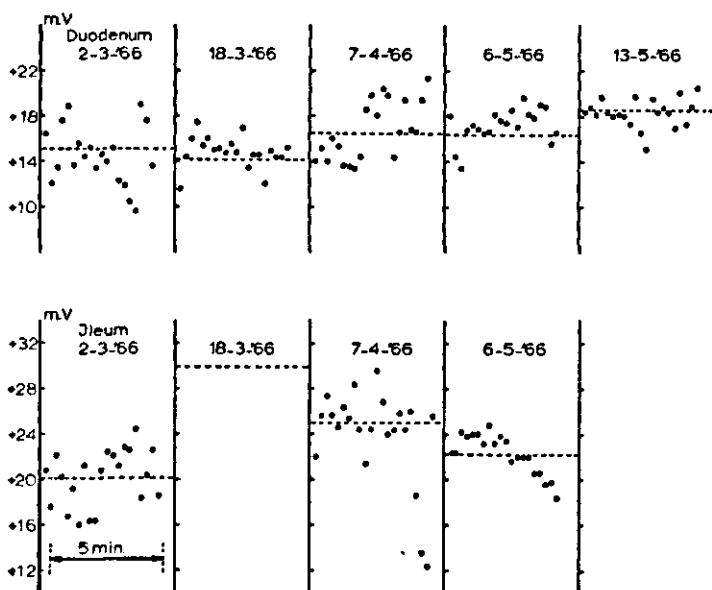


FIG. 7. Het elektrische potentiaalverschil tussen bloed en duodenuminhoud, resp. ileuminhoud van een koe op verschillende rantsoenen.
Difference in electrical potential between blood and duodenal content c.q. ileal content of a cow on different rations.

De uitkomsten van de metingen zijn verwerkt in figuur 7. De onderbroken lijnen in deze figuur geven de rekenkundige gemiddelden weer van alle waarnemingen die op de aangegeven dag werden verricht, terwijl de punten slechts betrekking hebben op ongeveer 20 op elkaar volgende metingen.

Op 18 maart 1966 werd voor het ileum slechts een twintigtal aflezingen gedaan, verspreid over twee, ongeveer even lange series. Daar deze series in intervallen van maar $2\frac{1}{2}$ min. werden verkregen, voldeden zij niet aan de hiervoor gestelde voorwaarden. Niettemin is het gemiddelde van deze metingen in figuur 7 aangegeven. Op 13 mei 1966 konden wij geen goede verbinding tussen ileuminhoud en calomelelektrode tot stand brengen, zodat voor deze dag de waarnemingen ontbreken.

Het elektrische potentiaalverschil: bloed minus duodenumlumen, schommelde tussen + 10 en + 20 mV. Op de verschillende proefdagen werden gemiddelde waarden berekend van + 14,2 tot + 18,6 mV. Deze waarden komen goed overeen met die welke elders voor het begin van de dunne darm van schapen zijn gevonden (CARE en VAN 'T KLOOSTER, 1965; SCOTT, 1965b).

Tussen het bloed en de chymus in het lumen van het einde der dunne darm (ileum) vonden wij potentiaalverschillen, die steeds hoger waren dan die tussen het bloed en de duodenuminhoud. Op 2 maart, 7 april en 6 mei werden gemiddelde waarden berekend van + 20,1, + 25,1 en + 22,1 mV. Zoals hiervoor reeds

werd opgemerkt, werden op 18 maart te weinig metingen verricht om de uitkomsten goed te kunnen beoordelen.

In een onderzoek met schapen vond SCOTT (1965b) waarden van $+7,6 \pm 2,2$ mV voor het elektrische potentiaalverschil tussen bloed en ileuminhoud, veel lagere waarden derhalve dan wij in onze proeven met Lamkje vonden. Zijn uitkomsten waren eveneens lager dan die welke door ons tussen bloed en duodenuminhoud waren afgelezen.

In dit verband willen wij wijzen op de grote verschillen in de Na- en de K-gehalten van de ileuminhoud van het schaap en de koe, die door ons zijn waargenomen (3.4). Zo was in het ileum van de koe het Na-gehalte in de ongedroogde chymus slechts weinig hoger dan de helft van dat bij het schaap; het K-gehalte daarentegen was bij de koe niet minder dan vier maal zo hoog. Dit had ten gevolge dat de Na:K-verhouding bij het schaap 11:1 bedroeg en bij de koe slechts 2:1. Wanneer de gehalten aan Na en aan K in de ileuminhoud van de schapen waarbij SCOTT zijn metingen verrichtte, overeenkwamen met die van ons proefschap (tabel 22), dan zou daarmee het grote verschil der elektrische metingen misschien kunnen worden verklaard.

Verskillende onderzoekers (DOBSON, 1956; DOBSON en PHILLIPSON, 1958; SELLERS en DOBSON, 1960; HARRISON et al., 1964; SCOTT, 1965b) hebben nl. aangetoond, dat de grootte en de richting van het elektrische potentiaalverschil tussen het bloed en het lumen van het maagdarmlkanaal bij schapen afhangen van de gehalten aan Na en K in de maagdarminhoud. Daar een daling van het Na-gehalte in die proeven doorgaans gepaard ging met een stijging van de K-gehalten, was het niet mogelijk het effect dezer twee ionen streng van elkaar te scheiden. Niettemin vond DOBSON (1956) dat lagere gehalten aan Na in het reticulorumen gepaard gaan met grotere potentiaalverschillen (bloed minus reticulorumeninhoud), dus een negatieve correlatie, terwijl HARRISON et al. (1964) voor K juist een positieve correlatie vonden.

De grote verschillen tussen het schaap en de koe in de Na- en de K-gehalten der ileuminhoud zouden op grond van het hierboven vermelde inderdaad aanleiding kunnen zijn tot het uiteenlopen der waarden voor het elektrische potentiaalverschil en wel in de richting zoals wij die vonden. Of daarmee echter het gehele verschil kan worden verklaard, is voorshands niet te zeggen.

Hoewel de elektrische potentiaalverschillen tussen het bloed en de duodenuminhoud van onze proefkoe op de verschillende proefdagen niet veel uiteenliepen, gingen lagere gehalten aan Na en hogere gehalten aan K in het algemeen toch gepaard met hogere waarden voor het potentiaalverschil. Dit werd echter niet gevonden voor het ileum.

Wanneer het transport van het Ca en het Mg door de darmwand een passief proces is, dan zal het elektrische potentiaalverschil de beweging dier kationen naar het bloed tegenwerken, omdat het potentiaalverschil: bloed minus darminhoud positief is. De tegenwerkende kracht zal groter worden naarmate het elektrische potentiaalverschil toeneemt. Er zal pas een netto-resorptie van calcium- en magnesiumionen kunnen optreden, wanneer de concentraties van die ionen in het darmvocht zó hoog zijn, dat, behalve de concentratiegradiënt, ook

de elektrische gradiënt kan worden overwonnen. De vereiste minimumconcentraties voor het optreden van een netto-transport dezer ionen naar het bloed, kunnen bij benadering worden berekend met de bekende formule van NERNST:

$$E = \frac{RT}{2F} \ln \left(\frac{C_1}{C_b} \right)$$

waarin E het elektrische potentiaalverschil in millivolts, R de gasconstante in joules, T de absolute temperatuur in $^{\circ}\text{C}$, F het getal van FARADAY en C_1 en C_b (meq/l) de concentraties van de calcium- en de magnesiumionen in respectievelijk darm-lumen en bloed voorstellen.

De calciumionenconcentratie in het bloedplasma van gezonde koeien bedraagt volgens BOOGAERDT (1954) 2,8 meq per l. De magnesiumionenconcentratie werd door deze onderzoeker niet bepaald; maar het lijkt zeer waarschijnlijk, dat van het Mg in bloedultrafiltraten een ongeveer even groot percentage in de ionvorm verkeert als van het Ca, nl. 90%. Wij menen daarom, dat ongeveer 1,1 meq Mg per l bloed van koeien in de ionvorm aanwezig zal zijn.

Bij elektrische potentiaalverschillen van resp. +14, +16, +18, +22, +25 en +28 mV moeten de calciumionenconcentraties in de darminhoud volgens bovenstaande formule achtereenvolgens ten minste 8,0, 9,3, 10,8, 14,6, 18,2 en 22,8 meq per l darmvocht bedragen, voordat er netto-transport van calciumionen naar het bloed plaats kan vinden. Voor het magnesiumion in het darmvocht zullen de concentraties achtereenvolgens hoger moeten zijn dan 3,2, 3,7, 4,3, 5,7, 7,2 en 9,0 meq per l darmvocht. Uiteraard moet bij afwijkende gehalten aan Ca en aan Mg in het bloedplasma met andere ionenconcentraties worden gerekend.

Een beschouwing van de concentraties aan calcium- en magnesiumionen in de duodenuminhoud van de fistelkoe (tabel 21) leert ons, dat die concentraties alleen op het hooi- en op het grasrantsoen ongeveer gelijk aan of lager waren dan de vereiste minimumconcentraties. Op de rantsoenen met krachtvoer waren de concentraties van de calcium- en de magnesiumionen steeds hoger dan de berekende vereiste concentraties.

In de ileuminhoud waren de concentraties van de calciumionen volgens de berekening steeds te laag; die van de magnesiumionen daarentegen waren alleen op het hooirantsoen en kort na de overgang op gras (6-5-'66) te laag voor het optreden van netto-resorptie door een passief transport van ionen. Op de winterrantsoenen waren de gehalten aan ionen van dit metaal in de ileuminhoud wederom hoger dan de vereiste.

Welke de invloed is geweest van de daling van het serummagnesiumgehalte die na de overgang op het gras werd vastgesteld, is niet te zeggen. Wij mogen echter wel aannemen, dat de magnesiumionenconcentratie in het bloedplasma daarbij eveneens sterk gedaald zal zijn. Daarom zal ook toen, afgezien van de secretie met het darmsap, een netto-transport van magnesiumionen naar het bloed mogelijk zijn geweest.

Uiteraard heeft het bovenstaande geen betrekking op het niet in ionvorm ver-

kerende Ca en Mg. De resorptie daarvan is nl. onafhankelijk van het elektrische potentiaalverschil.

Ook wanneer het transport van Ca en Mg door de darmwand een actief proces zou zijn, behoeft de netto-beweging niet in overeenstemming te zijn met de elektro-chemische gradiënt. Inderdaad is onder die omstandigheden de netto-beweging doorgaans in een tegenovergestelde richting dan volgens de elektro-chemische gradiënt werd verwacht.

3.7 DE NETTO-RESORPTIE IN DE DARM VAN KOEIEN

Door de hoeveelheden van de verschillende minerale bestanddelen in de chymus die de dunne darm verlaat, te vergelijken met de hoeveelheden die met de spijsbrij naar de dunne darm vloeien, kan de netto-resorptie in dit darmgedeelte worden geschat. Eveneens kan de netto-resorptie in de dikke darm worden geschat door vergelijken van de hoeveelheden der mineralen in de mest met de hoeveelheden die naar de dikke darm gingen.

Hieronder zal eerst de netto-resorptie in de dikke darm worden behandeld (3.7.1) en daarna die in de dunne darm (3.7.2). Deze volgorde is gekozen, omdat de resorptie in de dikke darm uitvoeriger is onderzocht dan die in de dunne darm.

3.7.1 *De netto-resorptie in de dikke darm*

In paragraaf 3.2 van deze verhandeling werd reeds vermeld dat zowel gedurende een aantal dagen vóór als tijdens de proefperioden driemaal per dag 17 g Cr_2O_3 -papier werd verstrekt aan de proefkoeien Maartje en Lionne, beide met fistels in de blinde darm en in de pens. Het Cr_2O_3 -papier, z.g. 'shredded paper', dat gemaakt is door filtreerpapier te drenken in een suspensie van Cr_2O_3 en na het drogen te verdelen in ongeveer 3 mm brede en 15 cm lange reepjes, werd ingerold in een voldoende groot stuk gewoon filtreerpapier. De rollen, die ieder 17 g Cr_2O_3 -papier omsloten, konden gemakkelijk via de pensfistels in de pens worden gebracht.

Uit proeven van DEINUM et al. (1962), waarbij twee maal per dag oraal 25 g Cr_2O_3 -papier aan koeien werd verstrekt, is gebleken dat na vijf dagen toedienen van Cr_2O_3 de gehalten in de mest niet meer stijgen. Wij hebben steeds een langere voorperiode aangehouden dan vijf dagen en wel minimaal zes dagen. Om een gelijkmatige verdeling van het Cr_2O_3 over de inhoud van het maagdarmkanaal te bevorderen, hebben wij drie maal per dag Cr_2O_3 toegediend en wel 's morgens, 's middags en 's avonds.

Het bemonsteren van de mest en de blinde-darm-inhoud geschiedde op de wijze, die in paragraaf 3.2 is beschreven.

De gehalten aan Cr_2O_3 werden weer bepaald volgens een door STEVENSON en DE LANGEN (1960) beschreven methode (2.3.7). Voor de bepaling van het Cr_2O_3 -gehalte van het Cr_2O_3 -papier werden van 15 à 20 reepjes Cr_2O_3 -papier snippers afgeknipt. Deze snippers werden na nauwkeurig wegen aan 1 à $1\frac{1}{2}$ g gedroogde, Cr_2O_3 -vrije mest toegevoegd en vervolgens verast. De as werd behandeld zoals

die van alle andere monsters. In vijf bepalingen, waarbij uitgegaan werd van 37,0 mg, 31,0 mg, 38,8 mg, 29,3 mg en 34,0 mg Cr_2O_3 -papier, vonden wij achtereenvolgens 11,60 mg, 9,95 mg, 12,20 mg, 9,50 mg en 10,75 mg Cr_2O_3 . Dit is 31,4%, 32,1%, 31,4%, 32,4% en 31,6%, dus gemiddeld 31,8% Cr_2O_3 .

Alle bepalingen werden in duplo uitgevoerd. De verschillen tussen de duplo's waren in de routinebepalingen meestal kleiner dan 1%; tot 3% werd echter toegelaten.

De proeven

Van de proeven C en D, beschreven in paragraaf 3.2, stonden de gehalten aan Cr_2O_3 van vijf monsters blinde-darm-inhoud en vijf monsters mest ter beschikking. Zoals gezegd werden ook de gehalten aan Na, K, Ca, Mg en fosfaat in deze monsters bepaald. Proef C werd met de beide koeien, Maartje en Lionne, uitgevoerd, proef D alleen met Lionne.

Behalve van deze proeven stonden ons nog de analyseuitkomsten ter beschikking van een proef die van 12-3-1964 tot 28-3-1964 met Maartje werd uitgevoerd (proef F). Gedurende deze periode kreeg Maartje op stal een rantsoen, dat bestond uit 4,5 kg hooi, 10 kg kuilgras, 3 kg maisglutenglucose en 1,5 kg suikerpulp. Het kuilgras werd slecht gegeten. Gedurende de 5 dagen van de eigenlijke proefperiode, die van 23 tot 28 maart duurde, werd een totale voerrest van 10,1 kg teruggewogen, voornamelijk bestaande uit kuilgras. De droge-stof-opname van deze koe, die nog ongeveer 5 kg melk per dag produceerde, bedroeg 9,5 kg per dag.

Ook in proef F werd driemaal daags 17 g Cr_2O_3 -papier via de fistel in de pens gebracht, terwijl de monsterneming van mest en blinde-darm-inhoud geschiedde zoals onder proef D werd aangegeven (3.2).

Uitkomsten

Nemen wij aan dat al het oraal toegediende Cr_2O_3 het lichaam met de mest verlaat, dan kunnen de hoeveelheden der mineralen die per dag met de mest worden uitgescheiden, alsook de hoeveelheden die aanwezig zijn in de chymus die per dag de blinde darm passeert, worden berekend met de formule $(b/a) \times c$, waarin b het aantal g Cr_2O_3 voorstelt dat per dag werd verstrekt, a het aantal g Cr_2O_3 per kg ongedroogde blinde-darm-inhoud of mest en c het aantal g der verschillende minerale bestanddelen in hetzelfde materiaal, eveneens per kg.

Voert men deze berekening uit zowel voor de inhoud uit de blinde darm als voor de mest, dan krijgt men, door de hoeveelheden der mineralen in de mest af te trekken van de hoeveelheden in de blinde-darm-inhoud, een getal dat de netto-resorptie of de netto-secretie van deze mineralen tussen blinde-darm-fistel en anus aangeeft. Deze resorptie of secretie zal voornamelijk in de dikke darm hebben plaatsgevonden.

In tabel 24 zijn de uitkomsten van zulke berekeningen voor vier proeven weergegeven. Daarbij is er op grond van overwegingen die hierna zullen worden toegelicht, van uitgegaan, dat 96,5% van het per dag verstrekte Cr_2O_3 met de mest wordt afgegeven. Een plus-teken geeft aan dat de resorptie uit de dikke darm

groter was dan de secretie; een min-teken duidt het tegengestelde aan.

Opvallend is de geheel verschillende gang van zaken bij de alkalimetalen enerzijds en de aardalkalimetalen en de P anderzijds. Van het *natrium* werd in de dikke darm gemiddeld niet minder dan 88% geresorbeerd, van het *kalium* gemiddeld 54%. Deze uitkomsten komen goed overeen met de bevindingen van VAN WEERDEN (1959) bij slachtkoeien en van GOODALL en KAY (1965) bij schapen.

Dat er, in tegenstelling met de alkaliën, blijktens tabel 24 *calcium* in de dikke darm werd uitgescheiden, zij het niet in grote hoeveelheden, strookt geheel met de gangbare opvattingen. Met de alkalische urine van het rund wordt nl. maar weinig Ca uitgescheiden, meestal minder dan 1 g per dag. Het 'overtollige' Ca zou het lichaam verlaten via de dikke darm.

Ook *magnesium* en *fosfaat* werden blijktens tabel 24 aan de inhoud van de dikke darm toegevoegd. Het betreft ook hier kleine hoeveelheden, die zeker voor een belangrijk deel kunnen worden toegeschreven aan secretie met het darmsap en aan afstoting van epitheliumcellen in de dikke darm. Daar wij de netto-secretie berekenden uit het verschil van de hoeveelheid mineraal in de blinde-darm-inhoud en in de mest, is de fout van beide grootheden van invloed op de uiteindelijke uitkomst. Het is daarom duidelijk, dat aan de gevonden waarden voor de netto-secretie van Ca, Mg en P geen grote nauwkeurigheid kan worden toegekend. Niettemin gaven de uitkomsten van de verschillende proeven dezelfde tendens te zien.

De gehalten van het Cr_2O_3 in de *droge stof* van de mest waren hoger dan die in de *droge stof* van de blinde-darm-inhoud. Dit wijst er op, dat er uit de dikke darm 'droge stof' verdwijnt. Bij onze proeven was dit ongeveer 230 g per dag, hetgeen twee maal zo veel is als de hoeveelheid Na plus K, die uit de dikke darm werd geresorbeerd. Daar het gehalte aan vluchtige vetzuren in de inhoud van de blinde darm aanzienlijk hoger is dan dat in de mest (VAN WEERDEN, 1959), ligt het voor de hand, dat wij voor een verklaring in de eerste plaats aan deze zuren hebben gedacht.

Dat er ook resorptie van *water* plaats vond, blijkt uit de indikking van de chymus gedurende zijn verblijf in de dikke darm. Deze waterresorptie bedroeg bij onze proeven gemiddeld 18,6 kg per dag of 41 gewichtsprocenten van de hoeveelheid chymus in de blinde darm.

Zoals gezegd werd er 51 g Cr_2O_3 -papier per dag aan de proefkoeien verstrekt. Dit Cr_2O_3 -papier bevatte 31,8% Cr_2O_3 . In de mest zou dus 16,2 g Cr_2O_3 teruggevonden moeten worden, wanneer 100% van de dosis Cr_2O_3 in de mest zou geraken.

Daar van drie proeven, die op de proefstal werden uitgevoerd, de hoeveelheden der per dag geproduceerde mest bekend zijn, konden wij berekenen, hoeveel procent Cr_2O_3 daarmee uitgescheiden werd.

Maartje ontving in proef F van 24 tot en met 28 maart 1964 een hoeveelheid van $5 \times 16,2 = 81,0$ g Cr_2O_3 en produceerde 89,2 kg mest met 76,1 g Cr_2O_3 , zodat 94,0% van het toegediende chroomoxyde werd teruggevonden. In een ande-

TABEL 24. De netto-resorptie van de verschillende minerale bestanddelen in de dikke darm van koeien, berekend met Cr_2O_3 als merksubstantie van blinde-darm-inhoud en mest.

	Cr_2O_3 mg/kg		berekend aantal kg/dag aan			Na g/dag		
	bld.inh.	mest	bld.inh.	mest	verschil	bld.inh.	mest	verschil
proef F-Maartje; rantsoen: hooi, kuilgras, maisgluten- glucose en suikerpulp	54,14	85,32	28,9	18,4	+10,5	56,8	8,8	+48,0
proef C-Maartje: grasrantsoen	31,97	61,10	48,9	25,6	+23,3	69,5	3,2	+66,3
proef C-Lionne: grasrantsoen	24,84	42,24	63,0	37,0	+26,0	81,1	12,3	+68,8
proef D-Lionne; rantsoen: hooi, koek en pulp	38,33	62,28	40,8	25,1	+15,7	63,4	6,9	+56,5
gemiddeld	37,32	62,76	45,4	26,5	+18,9	67,7	7,8	+59,9

re proef werd van Lionne over drie dagen 72,0 kg mest verzameld. Hierin bevond zich 46,8 g Cr_2O_3 ; dit is 96,3 % van de verstrekte hoeveelheid. In proef F werd van Lionne over vijf dagen 120,8 kg mest gewogen, waarin 75,23 g Cr_2O_3 , of 92,9 % van het oraal toegediende chroomoxyde.

Niet al het oraal toegediende Cr_2O_3 werd dus teruggevonden. De oorzaken daarvan kunnen zijn:

1. dat bij het verzamelen van de mest verliezen optraden, b.v. door wegspringen van deeltjes mest door de stal, door resten aan het tuig en aan de verzamelbakken en door verliezen met de urine als gevolg van niet volledig gescheiden opvangen van mest en urine,
2. dat een kleine hoeveelheid Cr_2O_3 in het dier is achtergebleven,
3. dat tijdens het verwerken van de monsters mest en blinde-darm-inhoud Cr_2O_3 verloren ging,
4. dat door het bemonsteren van de blinde-darm-inhoud Cr_2O_3 aan de darm-inhoud onttrokken werd, dat zich in de monsters bevond.

ad 1. Door de omstandigheden gedwongen, werden de stofwisselingsproeven niet uitgevoerd alsof het balansproeven waren. Bovendien ondervonden wij meermalen moeilijkheden bij het gescheiden opvangen van de urine en de mest, vooral in de proeven met Lionne. In de urine van dit dier bevond zich nl. steeds een weinig mest. Hoeveel van het Cr_2O_3 er met de urine verloren is gegaan, is ons niet bekend. Het lijkt echter geenszins onmogelijk, dat maximaal 1 % van de dosis Cr_2O_3 , d.i. 162 mg per dag, op deze wijze is ontsnapt, hetgeen overeenkomt met 15 g mest per liter urine.

ad 2. Aan het Instituut voor Biologisch en Scheikundig Onderzoek van Landbouwgewassen te Wageningen werden in 1960 en 1961 proeven met drie koeien uitgevoerd, waarbij werd onderzocht hoeveel procent van het oraal toegediende Cr_2O_3 werd terug gevonden in de mest (DEINUM et al., 1962). Gedurende de

The net-absorption of various minerals in the large intestine of cows, calculated with Cr_2O_3 as a marker of caecal contents and feces.

K g/dag			Ca g/dag			Mg g/dag			P g/dag		
bld.inh.	mest	verschil	bld.inh.	mest	verschil	bld.inh.	mest	verschil	bld.inh.	mest	verschil
48,9	26,4	+22,5	27,4	30,2	-2,8	10,8	11,3	-0,5	17,0	17,7	-0,7
104,2	34,0	+70,2	35,6	38,2	-2,6	17,1	17,4	-0,3	27,1	27,0	-0,1
171,9	88,1	+83,8	50,3	54,6	-4,3	22,0	24,5	-2,5	54,3	55,5	-1,2
86,0	40,7	+45,3	50,2	52,7	-2,5	21,2	22,0	-0,8	35,0	35,3	-0,3
102,8	47,3	+55,4	40,9	43,9	-3,0	17,8	18,8	-1,0	33,4	33,9	-0,5

hoofdperioden, die bij deze proeven 10 dagen duurden, werden teruggevonden 97,5, 98,6 en 98,2% van de toegediende hoeveelheden. Na afloop van de proeven werd een dezer proefkoeien geslacht; van verschillende lichaamsdelen werden monsters genomen, die eveneens op Cr_2O_3 werden onderzocht. Daarbij werden sporen Cr_2O_3 aangetroffen in verschillende organen, met name in de mesenteriale lymfeklieren. Men nam aan, dat het niet teruggevonden Cr_2O_3 op enigerlei wijze door het darmkanaal was geadsorbeerd of geresorbeerd.

ad 3. Het Cr_2O_3 is een zeer fijn poeder, dat gemakkelijk verstuijft. FIELD (1964) vergeleek de uitkomsten van de Cr_2O_3 -bepalingen in een aantal monsters gedroogde schapemest, die door twee verschillende molens waren gemalen. Het bleek hem dat de uitkomsten van de ene groep monsters 2,7% hoger waren dan die van de andere groep, hetgeen het gevolg zou zijn van verschillen in verstuijving.

Om na te gaan of er in onze kruisslagmolen verliezen aan Cr_2O_3 optreden door het malen van de droge mest en de blinde-darm-inhoud en zo ja, hoe groot deze verliezen wel zijn, hebben wij van zes monsters blinde-darm-inhoud het Cr_2O_3 -gehalte bepaald, zowel in het gemalen als in het niet gemalen materiaal.

Uit de analyses bleek, dat in het niet gemalen materiaal ongeveer 2% meer Cr_2O_3 werd gevonden dan in het gemalen materiaal. Strikt genomen is hiermee niet aangetoond dat dit verschil aan verstuijven van Cr_2O_3 tijdens het malen van de droge darminhoud moet worden toegeschreven. Het Cr_2O_3 -gehalte werd nl. bepaald in de luchtdroge stof van de monsters darminhoud. Wanneer er tussen de droge-stof-bepaling en de Cr_2O_3 -bepaling een aanmerkelijke tijd verloopt, dan bestaat de kans dat het maalgoed vocht opneemt, zodat de gehalten aan Cr_2O_3 iets lager worden. De berekening met de eerder bepaalde droge stof moet dan eveneens te lage waarden geven voor de mineralen. Wij zijn echter de mening toegedaan, dat onder de omstandigheden waarbij wij werkten, een verschil in de Cr_2O_3 -gehalten van 2% tussen de natte en de gedroogde blinde-darm-in-

houd niet het gevolg kan zijn van vochtaantrekking door het gemalen materiaal.

ad 4. Bij het bemonsteren van de darminhoud werd dagelijks 500 à 800 g chymus uit de blinde darm genomen. Per dag stroomde gemiddeld 45,4 kg chymus door de blinde darm, zodat daarvan ongeveer 1,5% werd verwijderd.

De verliezen aan Cr_2O_3 , die ontstaan door de oorzaken 1, 2, 3 en 4, schatten wij achtereenvolgens op 0,5, 2,2 en 1,5%, zodat 94% van het toegediende chroomoxyde in de mest had moeten worden teruggevonden; de overeenstemming kan zeer bevredigend worden genoemd.

Als basis voor het berekenen van de verliezen aan vocht en droge-stof-bestanddelen in de dikke darm moeten wij kennen:

a de hoeveelheid Cr_2O_3 die na de bemonstering nog in de blinde darm aanwezig is en b de hoeveelheid Cr_2O_3 die het lichaam verlaat. Deze hoeveelheden werden aan elkaar gelijk gesteld. Hierbij is aangenomen, dat de verliezen door oorzaak 2 reeds hadden plaatsgevonden, vóórdat het Cr_2O_3 de dikke darm bereikte, zodat er in de dikke darm geen Cr_2O_3 meer zou zijn verdwenen.

Door de oorzaken 2 en 4 bedroeg de eerstgenoemde hoeveelheid ongeveer $100 - 2 - 1,5 = 96,5\%$ van $16,2 \text{ g} = 15,63 \text{ g } \text{Cr}_2\text{O}_3$. Zoals gezegd werd hiermede ook de hoeveelheid Cr_2O_3 in de uitgescheiden mest als bekend verondersteld. Wel kan na het lozen van de mest door spatten, stuiven e.a. (oorzaken 1 en 3) droge stof verloren gaan; maar het beginsel van de Cr_2O_3 -methode brengt mee, dat hiervoor slechts dan iets in rekening behoeft te worden gebracht, wanneer de verhoudingen Cr_2O_3 /vocht en Cr_2O_3 /d.s. daarbij veranderen.

Samenvattend kan worden gezegd, dat aanzienlijke hoeveelheden Na en K in de dikke darm van koeien worden geresorbeerd. Van het in de blinde-darm-inhoud aanwezige Na werd zelfs 88% opgeslorpt en van het K 54%. Daarentegen werd voor het Ca, het Mg en het fosfaat in de dikke darm een geringe ex- en/of secretie vastgesteld.

Van de droge stof werd in de dikke darm ongeveer 230 g per dag geresorbeerd en hiervan bestond niet minder dan de helft uit Na en K. De waterresorptie bedroeg bij onze proeven gemiddeld 41 gewichtsprocenten van de hoeveelheid chymus in de blinde darm.

In drie proeven werd gemiddeld 94,4% van het toegediende Cr_2O_3 in de mest teruggevonden. Ongeveer 2% was in het maagdarmkanaal achtergebleven. De rest van het tekort werd veroorzaakt door het bemonsteren van de blinde-darm-inhoud en door verliezen bij de verzameling en verwerking van de mest. Met deze tekorten werd op passende wijze rekening gehouden bij het becijferen van de resorptie van vocht, droge stof en droge-stof-bestanddelen in de dikke darm.

3.7.2 De netto-resorptie in de dunne darm

Voor een schatting van de netto-resorptie van droge stof, water en minerale bestanddelen in de dunne darm van koeien stonden ons de Cr_2O_3 -gehaltes in de darminhoud van zes slachtkoeien ter beschikking, alsmede die in de duodenum-

en ileuminhoud van 1-3-'66, 18-3-'66, 5-4-'66, 5-5-'66 en 12-5-'66 bij de fistelkoe Lamkje (3.4).

De slachtkoeien hadden gedurende ten minste zes dagen vóór het slachten per dag gemiddeld 17,5 g Cr_2O_3 per os ontvangen (3.1.1). De gemiddelde Cr_2O_3 -gehalten en de middelbare afwijkingen dezer gemiddelden waren voor het begin van de dunne darmen voor de blinde darm achtereenvolgens $52,8 \pm 7,6$ en $338,8 \pm 87,8$ mg per kg chymus. Op de wijze als hiervóór is aangegeven, werd uit deze cijfers berekend, dat per dag gemiddeld 331 kg chymus door het begin van de dunne darm stroomde en dat daarvan nog 45 kg in de blinde darm over was.

Voor het Cr_2O_3 werden deze *gemiddelde* gehalten bij de verdere berekeningen gebruikt, omdat de grote variatie van de afzonderlijke gehalten waarschijnlijk in de eerste plaats toegeschreven moet worden aan de ongelijke verdeling van het Cr_2O_3 over de darminhoud en pas in de tweede plaats aan verschillen tussen de dieren.

De gemiddelde hoeveelheden der verschillende mineralen die per dag het begin van de dunne darm en de blinde darm passeerden, werden berekend door vermenigvuldiging van de hoeveelheden chymus met de gehalten der daarin bepaalde bestanddelen. Het verschil tussen deze twee waarden voor het begin van de dunne darm en voor de blinde darm geeft een indruk van de netto-resorptie in de dunne darm.

In de vijf dagmonsters duodenuminhoud en de vijf dagmonsters ileuminhoud van Lamkje, die 15,8 g Cr_2O_3 per dag ontving, bedroegen de gemiddelde Cr_2O_3 -gehalten en de middelbare afwijkingen dezer gemiddelden achtereenvolgens $49 \pm 8,3$ mg en $324,7 \pm 75,6$ mg per kg chymus. Deze middelbare afwijkingen waren derhalve niet kleiner dan die bij de slachtkoeien. Aangezien deze monsters van Lamkje verkregen waren door de duodenuminhoud in de loop van de dag vier maal te bemonsteren en de van één dag verkregen darminhoud telkens samen te voegen tot één dagmonster, mag worden verwacht, dat de schommelingen in de Cr_2O_3 -gehalten, ten gevolge van een ongelijkmatige verdeling over de darminhoud, niet groot zullen zijn geweest. Dat er niettemin bij Lamkje een grote variatie der Cr_2O_3 -gehalten bestond, moet daarom zeer waarschijnlijk voor een belangrijk gedeelte worden toegeschreven aan de grote verschillen in de rantsoenen die in deze proeven werden toegediend (tabel 21). Het hoogste Cr_2O_3 -gehalte in de duodenuminhoud werd gevonden op het rantsoen dat voor $\frac{2}{3}$ deel uit krachtvoer bestond; de laagste waarde werd op het grasrantsoen (12-5-'66) waargenomen.

Daar wij echter bij Lamkje op de vijf verschillende rantsoenen de gehalten aan Cr_2O_3 en aan de verschillende mineralen in de darminhoud telkens slechts van één dag hebben leren kennen, hebben wij afgezien van het berekenen van de netto-resorptie op ieder der proefdagen. In plaats daarvan is voor de duodenuminhoud zowel als voor de ileuminhoud telkens het gemiddelde over alle vijf proefdagen voor onze berekeningen gebruikt. De uitkomsten zijn vermeld in tabel 25.

Opvallend is de grote overeenkomst tussen het aantal kg chymus, dat per dag

TABEL 25. De netto-resorptie uit de dunne darm van koeien, berekend met Cr_2O_3 als merksu-
stantie van de darminhoud. De gehalten aan de verschillende mineralen in de
darminhoud van de slachtkoeien en van Lamkje zijn weergegeven in fig. 3 en in
tabel 21.

*The net-absorption in the small intestine of cows, calculated with Cr_2O_3 as a marker of
the intestinal contents. The contents of the various minerals in the intestinal contents
of slaughter cows and of Lamkje are given in fig. 3 and in table 21.*

	gehalten aan Cr_2O_3 mg/kg	berekende hoeveelheden chymus kg/dag	d.s. kg/dag	mineralen-g/dag				
				Na	K	Ca	Mg	P
slachtkoeien (6 stuks):								
begin dunne darm	52,8	331	(19,1)	638	394	63	32	200
blinde darm	388,8	45	3,5	93	75	47	23	34
verschil		286		545	319	16	9	166
Lamkje 13 (5 monsters):								
duodenum	49,0	322	9,9	572	369	81	25	96
ileum	324,7	49	3,6	90	103	49	18	41
verschil		273	6,3	482	266	32	7	55

door het begin van de dunne darm van de slachtkoeien en door het begin van de
dunne darm van de fistelkoe Lamkje vloeide. Hetzelfde kan gezegd worden van
de per dag passerende hoeveelheden chymus in de blinde darm der slachtkoeien
enerzijds en het einde van de dunne darm bij Lamkje anderzijds. Voorts zijn
deze laatste hoeveelheden op hun beurt gelijk aan die, betrekking hebbende op
de blinde darm van de hiervoor besproken koeien met blinde-darm-fistels
(3.7.1).

Wij vestigden er reeds de aandacht op, dat de daghoeveelheid der passerende
droge stof, die bij de slachtkoeien op grond van de Cr_2O_3 -gehalten van de chy-
mus werd berekend, voor het begin van de dunne darm onwaarschijnlijk hoog
werd gevonden. Dit werd in verband gebracht met het postmortale verval van
het slijmvlies, waardoor, behalve vocht, ook droge stof aan de chymus zal zijn
toegevoegd, zodat de d.s./ Cr_2O_3 -verhouding zal stijgen.

In de blinde-darm-inhoud echter, zal de d.s./ Cr_2O_3 -verhouding niet of nauwe-
lijks veranderen, doordat het postmortale verval daar ter plaatse slechts gering
is. Het gevolg van een en ander zal zijn geweest, dat de dunne-darm-resorptie,
beoordeeld aan de verschillen tussen de hoeveelheden chymus en mineralen in
het begin van de dunne darm en de hoeveelheden in de blinde darm, te hoog
werd gevonden. Hoeveel te hoog durven wij echter niet te zeggen.

Door in enkele proeven met Lamkje, naast Cr_2O_3 , ook nog de opgeloste
merksu-stantie P.E.G. (SPERBER et al., 1953) te verstrekken, konden wij bij enige
proeven de daghoeveelheid chymus voor het begin en voor het einde van de dun-
ne darm met behulp van twee merksu-stanties berekenen. Daarbij bleek voor

het duodenum, dat met P.E.G. steeds lagere waarden werden gevonden dan met Cr_2O_3 . Zo werd uit de Cr_2O_3 -gehalten van 5-4-1966, 5-5-1966 en 12-5-1966 een gemiddelde daghoeveelheid van 353 kg chymus berekend, terwijl uit de P.E.G.-gehalten een hoeveelheid van 305 kg werd becijferd, een verschil derhalve van 48 kg of bijna 15%. Vóór het einde van de dunne darm echter werd met P.E.G. ongeveer even veel chymus berekend als met Cr_2O_3 , nl. achtereenvolgens 68 en 64 kg per dag.

Een bevredigende verklaring voor deze verschillen bij het duodenum, verkregen met de twee genoemde merksubstanties, kunnen wij nog niet geven. Verder onderzoek is echter gewenst.

Uit het bovenstaande blijkt, dat aan onze bepalingen van de netto-resorptie uit de dunne darm (tabel 25), die wij thans zullen bespreken, geen grote nauwkeurigheid kan worden toegekend. Niettemin kon duidelijk worden vastgesteld, dat dagelijks grote hoeveelheden Na en K in de dunne darm werden geresorbeerd. Voor het Na was dat ongeveer 500 g en voor het K 200 tot 300 g; dit is achtereenvolgens 8 en 5 maal zo veel als in de dikke darm. Van het Na was maar een deel direct afkomstig van het voedsel, de rest van secretieprodukten. Ook van de aardalkaliën werden in dit darmgedeelte belangrijke hoeveelheden opgeslorpt. Van het Ca dat aanwezig was in het begin van de dunne darm, werd 25 tot 40% geresorbeerd, van het Mg ongeveer 28%.

Aan de hand van de gehalten aan Ca en aan Mg in de rantsoenen der slachtkoeien (tabel 17) kon de opname van Ca en van Mg met het voedsel worden geschat op 70 g Ca en 28 g Mg per dag. Met speeksel, maagsap, gal en sap van de Brunnerse kliertjes, te zamen ongeveer 300 l, zullen vermoedelijk nog ongeveer 10 g Ca en 3 g Mg zijn gesecerneerd, zodat dagelijks 80 g Ca en 31 g Mg naar het duodenum zouden stromen, wanneer er geen resorptie in de voormagen en in de lebmaag plaats zou hebben. Wij vonden met behulp van de Cr_2O_3 -gehalten in het begin van de dunne darm der slachtkoeien daghoeveelheden van 63 g Ca en 32 g Mg, derhalve duidelijk minder Ca dan werd verwacht, terwijl de verwachte en de gevonden hoeveelheid Mg ongeveer met elkaar overeenkwam.

Omdat de darminhoud op enkele meters van de pylorus werd bemonsterd, is het zeer goed mogelijk, dat het Ca-gehalte laag werd bevonden ten gevolge van de resorptie in het begin van de dunne darm. Bij andere diersoorten is nl. aangetoond, dat de Ca-resorptie het snelst verloopt in het duodenum en in het begin van het jejunum. Door anti-peristaltische bewegingen kan zich bovendien spijsbrij uit een meer caudaal darmgedeelte hebben vermengd met de inhoud in het begin van de dunne darm, hetgeen vooral verlagend zal werken op het Ca-gehalte, en wel omdat zeer waarschijnlijk ook bij het rund de Ca-resorptie zeer snel verloopt in het begin van de dunne darm.

Op dezelfde wijze als zojuist bij de slachtkoeien is beschreven, hebben wij de hoeveelheden Ca en Mg berekend, die gemiddeld per dag met de verschillende rantsoenen aan Lamkje werden verstrekt. Daarbij werd aangenomen, dat deze koe gemiddeld 12 kg d.s. per dag opnam. De gehalten der mineralen werden ontleend aan tabel 21. Wederom werd aangenomen, dat per dag 10 g Ca en 3 g

Mg met de secretieprodukten aan de hoeveelheden in het voeder – thans 73 g Ca en 26 g Mg – waren toegevoegd.

Op grond van deze berekeningen verwachtten wij dus, dat dagelijks 83 g Ca en 29 g Mg met de chymus naar het duodenum zouden vloeien. Voor het Ca kwam deze verwachting goed uit, zoals uit tabel 25 blijkt. Daarentegen werd slechts 25 g Mg in de duodenuminhoud van deze koe gevonden; dit is 4 g minder dan werd verwacht. Dit zou kunnen wijzen op resorptie van Mg in de voormagen en (of) in de lebmaag. In de voormagen en in de lebmaag zijn de omstandigheden voor de resorptie van Mg echter zeer ongunstig door de lage Mg-gehalten aldaar en de betrekkelijk hoge elektrische potentiaalverschillen, zodat de verklaring waarschijnlijk elders gezocht moet worden, al kunnen wij niet aangeven waar.

Wat het fosfaat betreft, ook hiervan werd een grote hoeveelheid in de dunne darm geresorbeerd. Het grote verschil tussen de daghoeveelheden in de chymus uit het begin van de dunne darm der slachtkoeien enerzijds en die in de duodenuminhoud van Lamkje anderzijds, hangt mogelijk samen met de postmortale veranderingen, zoals het te gronde gaan van epitheliumcellen e.a. Deze epitheliumcellen zijn nl. rijk aan fosfaat.

Van de droge stof bleek in de dunne darm van Lamkje per dag 6,3 kg geresorbeerd te zijn. Deze hoeveelheid omvat ongeveer 1,5 kg anorganische stoffen (Na, K, Cl, Ca, Mg, P) en 4,8 kg andere bestanddelen, alles afkomstig van het rantsoen, van secretieprodukten en van duodenumcellen.

Samenvattend kunnen wij zeggen, dat wij de netto-resorptie in de dunne darm van onze proefkoeien niet nauwkeurig hebben kunnen vaststellen. Wel kan stellig worden gezegd, dat aanzienlijke hoeveelheden mineralen in de dunne darm werden geresorbeerd. Afgaande op onze proeven met Cr_2O_3 als merksubstantie werd de netto-resorptie van het Na geschat op 500 g per dag, die van het K op 200 à 300 g. Van het Ca zou ongeveer 20 à 30 g en van het Mg ongeveer 8 g per dag worden geresorbeerd. Deze Cr_2O_3 -methode bleek echter niet zó betrouwbaar te zijn als wij hadden gehoopt.

De droge-stof-resorptie werd bij Lamkje berekend op ruim 6 kg per dag, waarvan ongeveer 1,5 kg voor rekening van anorganische bestanddelen kwam, voornamelijk afkomstig van voeder en secretieprodukten. De overige 4 à 5 kg had betrekking op andere voedercomponenten en andere bestanddelen van spijsverteringssappen en van afgestoten epitheliumcellen.

De netto-resorptie van water werd berekend op ongeveer 270 l per dag.

In drie proeven met de fistelkoe Lamkje kon de hoeveelheid chymus die het duodenum per dag passeert, worden bepaald zowel met Cr_2O_3 als met P.E.G. als merksubstantie. Met Cr_2O_3 werd ongeveer 15% méér gevonden dan met P.E.G. nl. 353 en 305 kg.

SAMENVATTING

Uit balansproeven van andere onderzoekers is reeds eerder gebleken, dat de schijnbare resorptie-coëfficiënt van het Ca en ook die van het Mg bij herkauwers zeer verschillend kan zijn. Aangezien het Mg en in mindere mate ook het Ca een belangrijke rol spelen bij de pathogenese van enkele dierziekten, in het bijzonder kopziekte, werd het dienstig geacht hun resorptie en in het bijzonder de toestand waarin deze mineralen in het darmkanaal van koeien verkeren, nader te onderzoeken, waarbij tevens enige andere mineralen, nl. Na, K en P, zijn betrokken.

Hiervoor werd de verdeling van het Na, K, Ca, Mg en de P over het ultrafiltreerbare en het niet-ultrafiltreerbare gedeelte van mest en darminhoud bij uiteenlopende voederrantsoenen van koeien onderzocht. Voorts werd met behulp van een sterke kationenwisselaar de fysisch-chemische activiteit van het Ca en het Mg in chymusultrafiltraten vergeleken met de activiteit dezer elementen in vergelijkbare zoutoplossingen.

Vervolgens werd met behulp van Cr_2O_3 als inerte merksubstantie bij fistelkoeien nagegaan hoeveel chymus er dagelijks door het begin van de dunne darm (duodenum) en door de blinde darm vloeide. Na het bepalen van de gehalten der minerale bestanddelen in de inhoud van het duodenum, de blinde darm en de mest, werd de netto-resorptie der genoemde mineralen uit de dunne darm en uit de dikke darm berekend.

In verband met de resorptie van de kationen werd bovendien het elektrische potentiaalverschil tussen bloed en darminhoud gemeten bij een fistelkoe op verschillende rantsoenen.

Wij zullen thans tot een samenvatting van dit onderzoek overgaan.

In hoofdstuk 2 zijn de methoden toegelicht die werden toegepast. Voor het scheiden van de ultrafiltreerbare en de niet-ultrafiltreerbare fractie van mest en van darminhoud werd de ultrafiltratietechniek gebruikt die door VAN WEERDEN (1959) werd beschreven. In een aantal monsters darminhoud werd voor deze scheiding gebruik gemaakt van een ultracentrifuge, nadat aangetoond was, dat de opgeloste en de ultrafiltreerbare fracties van de mest en van de dikke-darminhoud praktisch niet verschillen. In de inhoud van het duodenum bleek echter ongeveer 10% van het opgeloste Ca en Mg niet ultrafiltreerbaar te zijn (tabel 1 en 2).

Voor de bepaling van de activiteit van de Ca- en Mg-ionen in de chymus- en mestultrafiltraten in vergelijking met de activiteit dezer ionen in zuivere zoutoplossingen werd de methode van VAN KREVELD en VAN MINNEN (1955) aan de eigen omstandigheden aangepast. Deze methode berust op het herhaalde malen schudden van een kleine hoeveelheid (1 g) van een sterke kationenwisselaar met hoeveelheden van 20 ml van de te onderzoeken vloeistof. Andere porties van de kunsthars worden behandeld met enkele zoutoplossingen, meestal drie, waarin de gehalten aan Na, K en NH_3 overeenkomen met de gevonden gehalten in het ultraftraat, terwijl de gehalten aan Ca en Mg variëren. Uit de hoeveelheden der

mineralen die aan de hars worden geadsorbeerd, kan de ionenactiviteit worden afgeleid, zoals in de tekst uitvoerig is uiteengezet.

In dit hoofdstuk werd verder nog gewezen op de stijging van de zuurtegraad van darminhoud bij bewaren en ultrafiltreren (tabel 4).

Hoofdstuk 3. In een voederproef zijn de gehalten aan Na, K, Ca, Mg en P bepaald in de ultrafiltreerbare en de niet-ultrafiltreerbare fractie van de mest van twee melkkoeien op een stalrantsoen en op een grasrantsoen (3.1.1). In een andere voederproef, eveneens met twee melkkoeien, werd een winterrantsoen verstrekt, dat op stal kopziekte had verwekt.

In overeenstemming met de uitkomsten van vroegere onderzoekers werd in deze proeven gevonden, dat het overgrote deel van het opgenomen Ca en Mg en ook van de P met de mest werd uitgescheiden. Het Na en K daarentegen verliezen het lichaam voornamelijk met de urine.

De gehalten aan Ca en Mg per l ultraftraat van mest waren op het grasrantsoen (eerste proef) en op het kopziekerantsoen (tweede proef) veel lager dan die op normale winterrantsoenen. De fracties ultrafiltreerbaar Ca en Mg, uitgedrukt in procenten van de totale hoeveelheden dezer metalen in de mest, bedroegen op de eerstgenoemde rantsoenen slechts de helft of minder van die op normale winterrantsoenen.

Bij de P waren de verschillen minder duidelijk. In de meeste gevallen echter waren de P-gehalten per kg ongedroogde mest en per l ultraftraat op het gras- en kopziekerantsoen hoger dan die op de twee winterrantsoenen. Wellicht werd de resorptie der aardalkaliën daardoor geremd. Hiervoor kan ook worden aangevoerd, dat de uitscheiding van het Mg met de urine op het grasrantsoen geringer was dan op het winterrantsoen en op het kopziekerantsoen zelfs véél geringer.

3.1.2 behelst het onderzoek naar de toestand van het Ca, het Mg en het fosfaat in de niet-ultrafiltreerbare fractie van de mest. In deze fractie bleken de genoemde mineralen bijna geheel in onopgeloste vorm voor te komen. Praktisch al het Ca en Mg ging echter in oplossing na aanzuren van de mest met zoutzuur tot de pH ongeveer 4 was; van de P bleef daarbij nog een vierde deel in onopgeloste vorm achter.

Er werden aanwijzingen verkregen dat een gedeelte van het Ca en het Mg in de mest als onopgeloste fosfaten voorkomt. Op deze wijze zou ongeveer 50% van het Ca + Mg kunnen zijn gebonden. Er moeten echter ook nog andere verbindingen van deze metalen in de niet-ultrafiltreerbare fractie bestaan. Zo is er meestal minder fosfaat aanwezig dan nodig zou zijn om al het niet-ultrafiltreerbare Ca en Mg te binden, zelfs wanneer aangenomen wordt dat de P uitsluitend als driewaardig aardalkalifosfaat zou voorkomen.

Het bleek dat deze andere verbindingen niet uit carbonaten bestaan.

Ook menen wij dat op normale rantsoenen slechts betrekkelijk kleine gedeelten van het Ca en het Mg in de vorm van zepen met de mest worden uitgescheiden, al kunnen bij het verstrekken van grote hoeveelheden extra-vet aan koeien

ongetwijfeld belangrijke hoeveelheden zepen van Ca en wellicht ook van Mg in de mest worden verwacht.

Er werd evenwel aangetoond, dat de gedroogde en gemalen en daarna met behulp van zoutzuur aardalkalivrij gemaakte mest per 100 g d.s. ongeveer 38 meq Ca + Mg kon binden uit neutrale oplossingen. Ongeveer 75 tot 80% van dit gebonden Ca en Mg bleek aan de onverteerde mestdeeltjes geadsorbeerd te zijn, terwijl 20 tot 25% aan met ether extraheerbare bestanddelen (mogelijk hogere vetzuren) gebonden was. Wij berekenden dat in onze proeven 25 tot 30% van het Ca en Mg in de mest aan de onverteerde (organische) voedselresten, vooral die der vezeldeeltjes, geadsorbeerd kon zijn. Aangenomen mag worden dat deze adsorptie reeds optreedt in het midden van de dunne darm waar de pH van de chymus 6 of hoger is. Deze adsorptie van aardalkaliën verklaart wellicht voor een belangrijk deel waarom de behoefte aan Mg bij herkauwers groter is dan bij laboratoriumdieren, zoals wij in de inleiding van dit proefschrift hebben opgemerkt.

3.2 In deze paragraaf is een serie voederproeven besproken die uitgevoerd waren met twee koeien, ieder met fistels van pens en blinde darm. Deze proeven toonden aan, dat de verdeling van het Ca en het Mg over het ultrafiltreerbare en niet-ultrafiltreerbare gedeelte, zowel van mest als van blinde-darm-inhoud, grote verschillen te zien geeft, wanneer uiteenlopende rantsoenen worden gevoederd. Zo werd bij de fistelkoeien op rantsoenen, die uitsluitend uit ruwvoeder bestonden (enkel gras of hooi plus kuilgras), een geringere procentuele ultrafiltreerbaarheid van de aardalkaliën in mest en darminhoud gevonden dan wanneer een rantsoen werd verstrekt, waarvan krachtvoer een belangrijk bestanddeel uitmaakte. Dit hield voor de mest een bevestiging in van onze vroegere proeven, beschreven in 3.1.1.

Aangezien het krachtvoer dat in onze proeven werd verstrekt, steeds een betrekkelijk hoog gehalte aan Ca en aan Mg had en dus het Ca- en Mg-gehalte van het rantsoen verhoogde, is het mogelijk, dat de gunstige invloed van het krachtvoer op de ultrafiltreerbaarheid der aardalkalimetalen mede het gevolg is van de verhoging der gehalten aan Ca en Mg in het voer.

Daarnaast achten wij het echter zeer waarschijnlijk, dat bij gebruik van krachtvoerrijke en tevens ruwe-celstof-arme rantsoenen minder Ca en minder Mg aan de onverteerde vezeldeeltjes in de darminhoud worden geadsorbeerd, waardoor de ultrafiltreerbare fracties worden verhoogd.

Voorts menen wij, dat een lage aardalkali-alkaliteit van het voer, die o.a. veroorzaakt wordt door een hoog fosfaatgehalte van het rantsoen, aanleiding geeft tot een geringe ultrafiltreerbaarheid van het Ca en Mg in mest en blinde-darm-inhoud.

Gebleken is dat de percentages aan ultrafiltreerbaar Ca en Mg in de blinde darm, betrokken op de daar in totaal van ieder aanwezige hoeveelheden, ongeveer gelijk zijn aan die in de mest. Hoewel er enige afwijkingen van deze regel werden gezien, kan toch het onderzoek naar de Ca- en Mg-gehalten in het mest-

ultrafiltraat belangrijke aanwijzingen geven omtrent de gehalten in het ultrafiltraat van de blinde-darm-inhoud bij dezelfde koe.

3.3 De verdeling der mineralen over het opgeloste en onopgeloste gedeelte van de inhoud uit verschillende delen van de dunne darm werd bij zes slachtkoeien onderzocht (3.3.1). Aan de slachtkoeien waren uiteenlopende rantsoenen verstrekt, waarvan de samenstelling is vermeld in tabel 17. Verder werd gedurende 6 of meer dagen vóór het slachten 2 of meermalen per dag Cr_2O_3 (in z.g. shredded paper) toegediend. De uitkomsten zijn samengevat in de fig. 2, 3 en 4 en in tabel 18.

De gehalten der bij dit onderzoek betrokken minerale bestanddelen in het vocht van de darminhoud toonden een goede overeenkomst met de door VAN WEERDEN gevonden waarden in de ultrafiltraten, eveneens afkomstig van darminhoud van slachtkoeien.

Van het Ca, het Mg en de P was in het begin van de dunne darm meer dan 70% in opgeloste vorm aanwezig. Verder op in de darm nam dit percentage af; in het einde van de dunne darm was nog 35% van het Ca, 58% van het Mg en 31% van de P in oplossing, terwijl deze percentages in de mest waren gedaald tot resp. 15, 38 en 9. Een invloed van het rantsoen op deze percentages kon voor de dunne darm niet duidelijk worden aangetoond. Wat echter de mest betreft, werd ook nu weer gevonden, dat deze bij koeien die een grasrantsoen hadden ontvangen, minder ultrafiltreerbaar Ca en Mg bevatte dan de mest van koeien, die een winterrantsoen hadden gekregen.

In de dunne darm was alleen de resorptie van het Na groter dan die van de droge stof. De resorptie van het K en de P hield gelijke tred met die van de droge stof, terwijl het Ca en het Mg in de gehele dunne darm minder goed geresorbeerd werden.

In het begin van de dunne darm was de inhoud zwak zuur. Tot het midden van de dunne darm steeg de pH en in de tweede helft van de dunne darm was de reactie zwak alkalisch. In de blinde darm en verder op in de dikke darm en in de mest lag de pH ongeveer bij het neutrale punt.

Het elektrisch geleidingsvermogen in het vocht van de inhoud uit de verschillende delen van de dunne darm was vrijwel gelijk. In de dikke darm werden aanzienlijk lagere geleidingsvermogens gemeten. De laagste waarden werden steeds in de mest gevonden.

Met Cr_2O_3 als merksubstantie werd berekend, dat door het begin van de dunne darm per dag gemiddeld ca. 330 kg chymus passeert, een hoeveelheid die groter is dan de helft van het lichaamsgewicht der koeien. In de blinde darm werd veel minder chymus berekend, nl. ongeveer 45 kg per dag, terwijl voor de mest gemiddeld 24 kg per dag werd gevonden.

Uit het droge-stof-gehalte en de verdunning van het Cr_2O_3 in de verschillende delen van de dunne darm werden onwaarschijnlijk grote hoeveelheden droge stof voor de inhoud dezer delen berekend, vooral voor het begin van de dunne darm. Daar dit het gevolg kon zijn van afstoting van epitheliumcellen door en kort na het slachten (BOYNE et al., 1956), werd de darmwand onderzocht, zowel

van een koe die op de gebruikelijke wijze werd geslacht als van een koe waarbij stukjes darmwand onder narcose werden verzameld (3.3.2). Bij dit onderzoek bleek duidelijk, dat ook bij koeien spoedig na de dood sterke degeneraties aan het darmslijmvlies intreden (foto 1 en 2).

Verder werd de samenstelling onderzocht van darminhoud, verkregen van levende geanaestheeerde koeien (3.3.3). Uit dit onderzoek werd besloten, dat de hoeveelheid droge stof in de dunne darm van koeien kort na het slachten sterk was toegenomen door het zoëven genoemde verval van de mucosa. De gehalten aan Na, K, Ca, Mg en P in de dunne-darm-inhoud van de geanaestheeerde dieren (tabel 20) kwamen echter ongeveer overeen met die van de slachtkoeien (fig. 3). Daarom blijft het onderzoek naar de samenstelling van de darminhoud van geslachte dieren toch van betekenis. Niettemin dienen de aldus voor de dunne darm verkregen uitkomsten met de grootste voorzichtigheid te worden geïnterpreteerd. De inhoud van de dikke darm (coecum en colon) verandert tijdens en kort na het slachten hoogstwaarschijnlijk weinig of niet.

3.4 Bij een schaap en een koe (Lamkje), beide met fistels in het begin (duodenum) en in het einde van de dunne darm (ileum), werd de samenstelling van de darminhoud onderzocht op rantsoenen met uiteenlopende gehalten aan Na, K, Ca, Mg en P. De proefkoe kreeg bovendien twee maal daags 25 g Cr_2O_3 -papier met in totaal 15,8 g Cr_2O_3 per dag en in 2 proefperiodes bovendien nog twee maal daags 100 g polyethyleenglycol. Op deze rantsoenen waren de gehalten der genoemde mineralen in de ongedroogde duodenuminhoud der twee dieren ongeveer gelijk. In de ileuminhoud daarentegen waren bij het schaap de Na-gehalten hoger en de K-, Ca- en Mg-gehalten lager dan bij de koe. De duodenuminhoud van het schaap had een gehalte aan droge stof van gemiddeld 4,03 % en die van de koe een gehalte van gemiddeld 3,08 %. Bij het ileum was het juist omgekeerd: gemiddeld 6,60 % droge stof in de ileuminhoud van het schaap en 7,39 % in die van de koe. Rekent men de zoëven genoemde gehalten der mineralen in de ongedroogde chymus om in de gehalten in de droge stof, dan verandert dit maar weinig aan de zojuist vermelde uitkomsten.

De pH der ultrafiltraten was bij de twee dieren steeds ongeveer gelijk, nl. gemiddeld 4,7 in de duodenumultrafiltraten en 8,2 in de ileumultrafiltraten. Het verschil tussen de dieren voor het elektrisch geleidingsvermogen van de chymus was niet significant.

Tussen de gehalten aan K, Ca en Mg in de rantsoenen enerzijds en die der gelijknamige mineralen in de duodenum- en ileuminhoud anderzijds bleken positieve correlaties te bestaan; bij het Na werd echter geen correlatie gevonden. Bij de ileuminhoud waren de correlaties voor het K, Ca en Mg minder sterk positief dan die bij de duodenuminhoud.

Van het Ca en Mg in de duodenuminhoud bleek ongeveer 90 % ultrafiltreerbaar te zijn, van de P gemiddeld 73 %. In de ileuminhoud daarentegen was slechts 12 % van het Ca, 34 % van het Mg en 7 % van de P ultrafiltreerbaar. Deze lage waarden moeten waarschijnlijk worden toegeschreven aan de hoge pH in dit darmgedeelte.

Op een rantsoen, bestaande uit enkel gras, was bij beide dieren het Mg-gehalte in de duodenuminhoud zó laag, dat er nauwelijks netto-resorptie van Mg verwacht kon worden. In overeenstemming hiermede zagen wij een scherpe daling van de serummagnesiumgehalten der proefdieren na de overgang op gras.

3.5 Uit het onderzoek naar de activiteit der Ca- en Mg-ionen in de ultrafiltraten van duodenum- en ileuminhoud werd besloten, dat de activiteit van het Ca en het Mg in de duodenumultrafiltraten ongeveer 90 % bedroeg van de activiteit dezer elementen in zoutoplossingen met dezelfde gehalten aan kationen. In de ileumultrafiltraten waren deze percentages resp. 63 en 78 (tabel 23). De verschillen tussen duodenum- en ileumultrafiltraten konden, zeker voor een belangrijk gedeelte, worden verklaard uit de grote verschillen in pH en anionensamenstelling dezer vloeistoffen. Het werd niet uitgesloten geacht, dat van het Ca in de ileumultrafiltraten nog een klein gedeelte in gebonden toestand aanwezig was. De verkregen uitkomsten geven steun aan de opvatting, dat het Ca en het Mg in de ionvorm worden geresorbeerd.

3.6 Bij een koe met fistels in het duodenum en in het einde van de dunne darm bleek het elektrische potentiaalverschil: bloed minus duodenumlumen te schommelen tussen + 10 en + 20 mV. De gemiddelde waarden over de verschillende proefdagen bedroegen + 14,2 tot + 18,6 mV. Tussen het bloed en de chymus in het lumen van het ileum werden gemiddelde waarden berekend van + 20,1 tot + 25,1 mV (fig. 7).

Er werd becijferd dat de concentraties aan calcium- en magnesiumionen in het duodenumultrafiltraat van de fistelkoe op de twee rantsoenen met krachtvoer steeds hoger waren dan nodig is voor de netto-resorptie door diffusie dezer ionen. Op het hooirantsoen en op het grasrantsoen waren deze concentraties echter ongeveer gelijk aan of een weinig lager dan de vereiste minimumconcentraties. In de ileuminhoud waren de concentraties van de Ca-ionen volgens de berekening steeds te laag voor passief transport: die van de Mg-ionen daarentegen waren alleen maar te laag op het hooirantsoen en kort na de overgang op gras.

3.7 In drie proeven met twee fistelkoeien werd gemiddeld 94,4% van het toegediende Cr_2O_3 in de mest teruggevonden. Ongeveer 2 % was in het maagdarmkanaal achtergebleven. De rest van het tekort werd veroorzaakt door het bemonsteren van de blinde-darm-inhoud en door verliezen bij de verzameling en verwerking van de mest. Met deze tekorten werd op passende wijze rekening gehouden bij het becijferen van de resorptie van vocht, droge stof en droge-stof-bestanddelen in de dikke darm.

In de dikke darm werden bij deze koeien aanzienlijke hoeveelheden Na en K geresorbeerd. Van het in de blinde-darm-inhoud aanwezige Na werd zelfs 88 % opgeslorpt en van het K 54 %. Daarentegen werd voor het Ca, het Mg en het fosfaat in de dikke darm een geringe ex- en/of secretie vastgesteld (tabel 24).

Van de droge stof werd in de dikke darm niet meer dan ongeveer 230 g per dag geresorbeerd en hiervan bestond niet minder dan de helft uit Na en K. De

waterresorptie bedroeg gemiddeld 41 gewichtsprocenten van de hoeveelheid chymus in de blinde darm.

Wat de dunne darm betreft, werd voor de schatting van de netto-resorptie van droge stof, water en minerale bestanddelen gebruik gemaakt van de Cr_2O_3 -gehalten in de darminhoud van zes slachtkoeien, alsmede die in de duodenum- en ileuminhoud van de fistelkoe Lamkje (3.4) op verschillende proefdagen.

De netto-resorptie van het Na uit de dunne darm werd geschat op ongeveer 500 g per dag. Deze grote hoeveelheid Na moet blijkbaar voor een groot deel worden toegeschreven aan terugresorptie van het Na, dat met de spijsverteringssappen naar het maagdarmkanaal is afgegeven. De netto-resorptie van het K werd berekend op 200 à 300 g. Van het Ca zou ongeveer 20 à 30 g en van het Mg ongeveer 8 g per dag worden geresorbeerd. Deze Cr_2O_3 -methode bleek echter niet zo nauwkeurig te zijn als wij hadden gehoopt.

De droge-stof-resorptie in de dunne darm werd bij de fistelkoe berekend op ruim 6 kg per dag, waarvan ongeveer 1,5 kg voor rekening van anorganische bestanddelen kwam, voornamelijk afkomstig van voeder en secretieprodukten. De overige 4 à 5 kg had betrekking op andere voedercomponenten en andere bestanddelen van spijsverteringssappen en van epitheliumcellen. De netto-resorptie van water werd berekend op ongeveer 270 l per dag.

In drie proeven met de fistelkoe Lamkje kon de hoeveelheid chymus die het duodenum per dag passeert, worden bepaald zowel met Cr_2O_3 als met P.E.G. als merksubstantie. Met Cr_2O_3 werd ongeveer 15% meer gevonden dan met de opgeloste merksubstantie P.E.G.

SUMMARY

(Received 8-II-1967)

In balance experiments of earlier investigators it has already been shown that in ruminants the apparent absorption coefficient of calcium and also that of magnesium may vary greatly. Because Mg and to a lesser extent also Ca are of great importance in the pathogenesis of some animal diseases, especially grass tetany, it was considered useful to study more closely the absorption and especially the state of these minerals in the intestinal tract of cows. At the same time some other minerals, Na, K, and P were taken into consideration.

Therefore the distribution of Na, K, Ca, Mg, and P over the ultrafiltrable and the non-ultrafiltrable fractions of feces and intestinal contents was examined in cows on various rations. Moreover, with the aid of a strong cation exchanger the physico-chemical activity of the calcium- and magnesiumions in chyme ultrafiltrates was compared with the activity of these elements in pure salt solutions of similar composition.

Moreover, with the aid of Cr_2O_3 as an inert reference substance we estimated in fistulated cows the amount of chyme that daily passed through the beginning of the small intestine (duodenum) and through the cecum. After the determination of the concentrations of these minerals in the contents of the duodenum and cecum and in the feces, their net absorption from the small intestine and from the large intestine were calculated.

Also, in connection with the absorption of the cations, the electrical potential difference between blood and intestinal contents was measured in a fistulated cow on various rations.

On the following pages we will summarize the results of these investigations.

In *chapter 1* a review of the literature concerning the place of absorption of Ca and Mg, the absorption mechanisms of these elements and the state of the minerals in gut contents was given.

In *chapter 2* the methods used have been outlined. For the separation of the ultrafiltrable and non-ultrafiltrable fraction of feces and intestinal contents we used the method described by VAN WEERDEN (1959). In some instances, however, we used for this separation an ultracentrifuge, after having shown that the soluble fraction practically was identical with the ultrafiltrable fraction. Only in the duodenal contents about 10% of the dissolved Ca and Mg proved to be non-ultrafiltrable (table 1 and 2).

For the estimation of the activity of calcium- and magnesiumions in the ultrafiltrates in comparison with the activity of these ions in pure salt solutions the method of VAN KREVELD and VAN MINNEN (1955) was adapted to the conditions prevailing in our experiments. This method essentially consists in shaking several times a small quantity (1 g) of a strong cation exchanger with 20 ml quantities of the ultrafiltrate under examination. Other portions of the resin were treated with a small number of salt solutions, mostly three, in which the concentrations

of Na, K, and NH_3 were the same as those in the ultrafiltrates, and in which the concentrations of Ca and Mg varied. From the quantities of the minerals adsorbed at the resin the ion activity in the ultrafiltrate can be derived as is explained in detail in the text.

Also in chapter 2 attention was drawn to the rise in pH of gut contents upon keeping and ultrafiltration (table 4).

Chapter 3. In a metabolism trial the contents of Na, K, Ca, Mg and P were determined in the ultrafiltrable and non-ultrafiltrable fractions of the feces of two milch-cows on a winter ration and on a grass ration. In an other metabolism trial, again with two milch-cows, a winter ration which had given rise to grass tetany in the byre was fed (3.1.1).

In agreement with the results of earlier investigators it was found in these trials that a great deal of the ingested Ca and Mg as well as P was given off with the feces. On the contrary, Na and K leave the body mainly with the urine.

The concentrations of Ca and Mg in ultrafiltrates of feces were on the grass ration (first trial) and on the 'tetany prone ration' (second trial) much lower than on normal winter rations. The fractions of ultrafiltrable Ca and Mg, calculated as percentages of the total quantities of these metals in the feces, amounted on these rations at best to half the percentages on normal winter rations.

With P the differences were less conspicuous. In most cases, however, the P-contents per kg of fresh feces and per liter of ultrafiltrate were on the grass ration and on the 'tetany prone ration' higher than those on the two winter rations. Possibly the absorption of the alkaline earths was decreased by this reason. In support of this it also can be argued that on the grass ration the excretion of Mg with the urine was lower than that on the winter ration; on the tetany prone ration it even was much lower.

3.1.2 contains the analysis of the state of Ca, Mg, and phosphate in the non-ultrafiltrable fraction of the feces. In this fraction these minerals proved to occur almost completely as undissolved compounds. Nearly all the Ca and Mg were dissolved by acidifying the feces with hydrochloric acid to pH about 4; of the P, however, one quarter remained undissolved. Indications were obtained that parts of the Ca and Mg in feces occur as phosphates. About 50% of the Ca + Mg may be bound in this way. However, also other bindings of these metals must occur in this non-ultrafiltrable fraction. As a matter of fact there is mostly less phosphate than would be necessary to precipitate all non-ultrafiltrable Ca and Mg, even when it is supposed that P exclusively occurs as trivalent phosphate.

It was shown that these other compounds do not consist of carbonates.

We are convinced that on normal rations only relatively small quantities of Ca and Mg are excreted in the feces as soaps. It is granted, however, that undoubtedly appreciable quantities of Ca-soaps and possibly also of Mg-soaps may be expected to appear in the feces as a result of the administration of large quantities of fat.

It was shown, however, that the feces, after having been dried and ground and

thereupon made free from the alkaline earths by hydrochloric acid, are able to bind about 38 meq of Ca + Mg from neutral solutions per 100 g of dry matter. About 75 to 80% of this bound Ca and Mg proved to be adsorbed to the fat free feces particles, whereas 20 to 25% was bound to substances soluble in ether, possibly higher fatty acids. We calculated that in our experiments 25 to 30% of the Ca and Mg in the feces could be adsorbed to the undigested (organic) feed residues, especially to the fibrous particles. It may be assumed that this adsorption already takes place in the middle of the small intestine where the pH of the chyme has risen to 6. This adsorption of the alkaline earths certainly is one of the main reasons why the requirement of Mg of ruminants is higher than that of the ordinary laboratory animals, as was pointed out in the introduction to this thesis.

3.2 In this paragraph is discussed a series of metabolism trials performed with two cows, both of which had a fistula in the rumen and in the cecum. These trials demonstrated that the partition of Ca and Mg over the ultrafiltrable and non-ultrafiltrable fractions of feces as well as of cecum contents may show large differences if rations of varying compositions are fed. For instance, when the fistulated cows were fed on rations consisting only of roughage (only grass or hay plus silage) smaller proportions of the ultrafiltrable alkaline earths were found in feces and intestinal contents than on rations containing large amounts of concentrates. As far as the feces are concerned, this meant a confirmation of our earlier experiments mentioned in 3.1.1.

It should be kept in mind, however, that the concentrates fed in our experiments always had a high content of Ca and Mg, so that the Ca and Mg in the ration were raised. Therefore, it is possible that the favourable effect of the concentrates on the proportions of Ca and Mg in the ultrafiltrates partly may be due to the increase of the Ca- and Mg-contents in the feed. We are convinced, however, that, in addition, by using rations rich in concentrates and at the same time poor in crude fibre, less Ca and Mg are adsorbed to the undigested fibrous particles as a result of which the proportions in the ultrafiltrates are raised.

Moreover, we think that a low alkaline earth alkalinity of the feed, caused for instance by a high phosphate content of the ration, decreases the ultrafiltrability of Ca and Mg in feces and in cecal contents.

It is shown that the Ca and Mg in the ultrafiltrate of the cecal contents and calculated as percentages of the total amounts in this organ, are about the same as those in the ultrafiltrate of the feces. Although some exceptions to this rule were observed, the Ca- and Mg-concentrations of the ultrafiltrates of the feces can undoubtedly give important information on the ultrafiltrability of the Ca and Mg in the cecal chyme of the same cow.

3.3 Of six cows, freshly killed in the slaughterhouse, the partition of the dissolved and undissolved fractions in the various parts of the small intestine was studied (3.3.1). These cows had received a diversity of rations, the composition of which is given in table 17. Moreover, for six or more days before slaugh-

tering Cr_2O_3 (shredded paper) was administered at least two times a day. The results are summarized in fig. 2, 3, and 4, and in table 18.

In this investigation the minerals dissolved in the fluid of intestinal contents showed a good conformity with the concentrations in the ultrafiltrates found by VAN WEERDEN (1959) in his investigation also concerning freshly slaughtered cows.

In the first part of the small intestine over 70% of the Ca, Mg, and P was present in dissolved form. In the following parts this percentage decreased; at the end of the small intestine only 35% of the Ca, 58% of the Mg and 31% of the P was found in solution; in the feces these percentages had decreased to respectively 15, 38, and 9. As far as concerns the small intestine a distinct effect of the rations could not be demonstrated. However, the feces of the cows which received a grass ration again contained less ultrafiltrable Ca and Mg than the feces of the cows which had been fed on winter rations.

In the small intestine the absorption of Na was higher than that of dry matter; the absorption of K and P equalled the absorption of dry matter whilst for Ca and Mg it was lower in the whole small intestine.

The contents of the first part of the small intestine were slightly acid. In the following parts up to the middle of the small intestine the pH rose and in the second part the reaction became slightly alkaline. In the cecum and the following parts of the large intestine and in the feces the reaction was approximately neutral.

The electric conductivity in the fluid from the contents of the various parts of the small intestine was about the same. In the large intestine the conductivity was appreciably lower, whilst the lowest values always were found in the fecal ultrafiltrates.

With Cr_2O_3 as a reference substance it was calculated that on an average approximately 350 kg of chyme per day pass through the beginning of the small intestine, which means a quantity larger than half the body weight of the cow. In the cecum it was much less, viz. about 45 kg a day, whereas in the feces an average was found of 24 kg a day.

From the contents of dry matter and the dilution of the Cr_2O_3 in the various parts of the small intestine unlikely large quantities of dry matter were calculated for the contents of these parts, especially for those in the beginning of the small intestine. As this might have been the result of shedding of epithelium cells during and shortly after slaughtering (BOYNE et al., 1956) the intestinal wall was examined of a cow slaughtered in the ordinary way as well as of a living cow from which pieces of the intestinal wall were collected during anaesthesia (3.3.2). In this examination it was clearly shown that also in cows shortly after death extensive deterioration of the mucosa sets in (photo 1 and 2).

Furthermore we studied the composition of the intestinal contents obtained from living anaesthetized cows (3.3.3). From this examination it was concluded that just after slaughtering the quantity of dry matter in the small intestine of cows greatly had increased as a result of the just mentioned deterioration of the mucosa. The concentrations, however, of Na, K, Ca, Mg, and P in the small in-

testine of the anaesthetized animals (table 19) agreed fairly well with those of the slaughtered cows (fig. 2). Therefore the examination of the composition of the intestinal contents of slaughtered animals still remains valuable. Nevertheless, the results obtained in this way for the small intestine should be interpreted with utmost care. The contents of the large intestine (cecum and colon) most likely do not alter materially during and shortly after slaughtering.

3.4 In a sheep and a cow (Lamkje), both of them with fistulas in the beginning (duodenum) and in the end of the small intestine (ileum), the composition of the intestinal contents was examined on rations with varying amounts of Na, K, Ca, Mg, and P. Moreover, the cow obtained two times a day 25 g of Cr_2O_3 -paper with in total 15,8 g of Cr_2O_3 a day and, in addition, in two experimental periods two times a day 100 g of polyethyleneglycol (P.E.G.). On these rations the concentrations of the just mentioned minerals in the fresh duodenal contents of the two animals were almost equal. On the other hand in the ileum of the sheep the Na-concentrations were higher and the concentrations of K, Ca, and Mg were lower than in the cow. The duodenal contents of the sheep contained 4,03% of dry matter and that of the cow 3,08%, again on an average. In the ileum it was the reverse: mean dry matter content in the sheep's ileum 6,60% and in that of the cow 7,39%. If the above mentioned values of the mineral concentrations in the fresh chyme were converted into the concentrations in the dry matter, the results only changed very little.

The pH of the ultrafiltrates was about the same in the two animals, viz. 4,7 on an average in the duodenal ultrafiltrates and 8,2 in the ileal ultrafiltrates. The difference between the animals of the electric conductivity of the chyme was not significant.

There proved to exist positive correlations between the contents of K, Ca, and Mg in the rations on the one hand and the concentrations of the same minerals in the duodenal and ileal contents on the other hand; no correlation was found, however, with Na. The correlations of K, Ca, and Mg between feed and the ileal contents were not so high as those between feed and the duodenal contents.

In the duodenal contents about 90% of the Ca and Mg, and 73% of the P proved to be ultrafiltrable. In the ileal contents, however, only 12% of the Ca, 34% of the Mg, and 7% of the P was ultrafiltrable. These low values probably are due to the high pH in this section of the intestine.

On a ration consisting of grass only, in both animals the Mg-concentration in the duodenal contents was so low that hardly any net-absorption of Mg could be expected. Corresponding to this statement we saw a sharp decrease of the serum magnesium after the change over to grass.

3.5 From the examination of the activity of Ca- and Mg-ions in the ultrafiltrates it was concluded that the activity of both ions in the duodenal ultrafiltrates was about 90% of the activity of these elements in pure salt solutions with the same concentrations of these cations. In the ileal ultrafiltrates these

percentages were respectively 63 and 78 (table 23). The differences between the duodenal- and the ileal ultrafiltrates could be explained at least to a great deal by the large differences between the pH and between the proportions of the anions in these fluids. It is not excluded that a small part of the Ca in the ileal ultrafiltrates is present in a chemically bound form. The results obtained support the opinion that Ca and Mg are absorbed in the ionic state.

3.6 In a cow with fistulas in the duodenum and in the end of the small intestine the electric potential difference: blood minus duodenal lumen proved to vary between +10 and +20 mV. The mean values on single days between the blood and the chyme in the ileum averaged from +20,1 to +25,1 mV (fig. 7).

The concentration of calcium and magnesium ions in the duodenal ultrafiltrate of the fistulated cow fed on the two rations containing concentrates was always higher than considered necessary for net absorption by diffusion of these ions. On the hay and on the grass ration, however, the concentrations of these ions were approximately equal to or somewhat lower than the required minimum concentrations. We calculated that in the ileal contents the concentrations of the Ca-ions were always too low for passive transport. On the contrary the concentrations of the Mg-ions were only too low on the hay ration and shortly after the change over to grass.

3.7 In three trials with two fistulated cows, on an average 94,4% of the administered Cr_2O_3 was recovered in the feces. Approximately 2% of the deficit was retained in the intestinal tract. The remaining deficit was due to the sampling of the cecal contents and to losses while collecting and working up the feces. Due regard to these losses was paid in the calculations of the absorption of water, dry matter, and dry matter constituents in the large intestine.

In the large intestine of these cows considerable quantities of Na and K were absorbed. They amounted even to 88% of the Na and 54% of the K originally present in the cecal contents. On the other hand a small excretion in the large intestine of Ca, Mg, and P was demonstrated (table 24).

Only about 250 g a day of dry matter was absorbed in the large intestine; at least half of this amount consisted of Na and K. The water absorption amounted approximately to 41% by weight of the quantity of chyme in the cecum.

Concerning the small intestine an estimate of the net absorption of dry matter, water and mineral constituents was made, using the Cr_2O_3 -concentrations in the intestinal tract of six slaughter cows. With the same purpose Cr_2O_3 was analyzed in the duodenal- and ileal contents of the fistulated cow Lamkje (3.4) on various experimental days.

The net absorption of Na in the small intestine was estimated at about 500 g a day. Obviously part of this large quantity must be attributed to the reabsorption of Na which had been secreted with the digestive juices into the intestinal tract. The net absorption of K from the small intestine was estimated at 200 to 300 g a day, that of Ca at 20 to 30 g a day and that of Mg at about 8 g a day. The accuracy of this Cr_2O_3 -method, however, was not as great as we had hoped.

For the absorption of the dry matter in the small intestine of the fistulated cow we calculated over 6 kg a day, 1,5 kg of which was inorganic matter mainly originating from feed and secretion products. The remaining 5 kg referred to other feed constituents and to other components of digestive juices and epithelium cells. The net absorption of water was estimated at about 270 l a day.

In three experiments with the fistulated cow Lamkje the daily quantities of chyme passing through the duodenum were determined as well with Cr_2O_3 as with P.E.G. as a reference substance. With Cr_2O_3 about 15% higher values were obtained as with P.E.G.

LITERATUURLIJST

- AIKAWA, J. K.; Gastrointestinal absorption of Mg^{28} in rabbits. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, N.Y., **100** (1959), 293-295.
- AIKAWA, J. K.; Mg^{28} -Studies of magnesium metabolism. I.A.E.A./F.A.O. Symp. on the use of radioisotopes in animal nutrition and physiology, Praag 1964, SM 53/46.
- ALCOCK, N. en MCINTYRE, J.; Interrelation of calcium and magnesium absorption. *Biochem. J.* **76** (1960), 19-20 P.
- ALCOCK, N. en MCINTYRE, J.; Interrelation of calcium and magnesium absorption. *Clin. Sci.*, **22** (1962), 185-193.
- ASH, R. W.; Gastro-Intestinal re-entrant cannulae for studies of digestion in sheep. *Animal Prod.*, **4** (1962), 309-312.
- BADAWY, A. M., CAMPBELL, R. M., CUTHBERTSON, D. P. en FELL, B. F.; Changes in the intestinal mucosa of the sheep following death by humane killer. *Nature*, **180** (1957), 756-757.
- BADAWY, A. M., CAMPBELL, R. M., CUTHBERTSON, D. P., MACKIE, W. S. en FELL, B. F.; Further studies on the changing composition of the digesta along the alimentary tract of the sheep. *Brit. J. Nutr.*, **12** (1958), 284 en 367-383.
- BAILEY, C. B. en BALCH, C. C.; Saliva secretion and its relation to feeding in cattle. The composition and rate of secretion of mixed saliva in the cow during rest. *Brit. J. Nutr.*, **15** (1961), 383-402.
- BERGER, E. Y.; in: *Mineral Metabolism*, Vol. 1, Part A (1963), p. 270, ed. Comar, C. L. en Bronner, F. N., New York: Ac. Press. Inc.
- BERLINER, R. W.; Membrane transport. *Rev. of Mod. Physics*, **31** (1959), 342-348.
- BERTALANFFY, F. D. en NAGY, K.; Mitotic activity and renewal rate of human duodenal epithelium. *Anat. Rec.*, **130** (1958), 271-272 (abstr.).
- BLOM, G. F.; Het verband tussen de lipiden in het gras en de consistentie van de boter. Proefschrift Utrecht, 1962.
- LE BLOND, C. P. en MESSIER, B.; Renewal of chief cells and goblet cells in small intestine as shown by radioautography after injection of thymidine- H_3 into mice. *Anat. Rec.*, **132** (1958), 247-260.
- BOOGAERDT, J.; De toestand van het calcium in het bloed bij grote huisdieren. Proefschrift, Utrecht, 1954.
- BOOY, H. L.; Colloid chemistry of living membranes. *Conf. on Permeability*, Wageningen, (1962), pag. 5.
- BOYNE, A. W., CAMPBELL, R. M., DAVIDSON, J. en CUTHBERTSON, D. P.; Changes in composition of the digesta along the alimentary tract of sheep. *Brit. J. Nutrition*, **10** (1956), 325-333.
- BRANDSMA, S.; Over de minerale bestanddelen en hun onderlinge betrekkingen in weidegras van 'normale' bedrijven. *Meded. Landb. Hogeschool te Wageningen* **54** (1954), 245-309.
- BROUWER, E.; Over de consistentie van herfstboter. *Ned. Weekbl. voor zuivelbereiding en -handel*, **49** (1943), 173.
- BROUWER, E.; Over de onderlinge verhoudingen der minerale basen in gras en hooi. *Maandblad voor de Landb. voorlichtingsdienst* **8** (1951a), 208.
- BROUWER, E.; Over de zuren en basen in hooi, in normaal gras en in gras, dat aanleiding geeft tot haemoglobinurie (bloedwateren) of tot grastetanie (kopziekte) bij runderen. *Meded. Landb. Hogeschool te Wageningen* **51** (1951b), 91.
- BROUWER, E. en BRANDSMA, S.; Over de minerale bestanddelen en hun onderlinge verhoudingen in verschillende voedermiddelen en rantsoenen. *Meded. Landb. Hogeschool te Wageningen*, **53** (1953), 31-73.
- BROUWER, E. en VLIERT, A. J. VAN DER; Over de zuur-base-evenwichten in hooi, in normaal gras en in gras dat aanleiding geeft tot haemoglobinurie (bloedwateren) of tot grastetanie (kopziekte) bij runderen. *Meded. Landb. Hogeschool Wageningen*, **51** (1951), 73-90.

- CARE, A. D.; Report of Conference on Hypomagnesaemia. Brit. Vet. Ass., 1960, 34.
- CARE, A. D. en KLOOSTER, A. TH. VAN 'T; In vivo transport of magnesium and other cations across the wall of the gastro-intestinal tract of sheep. *J. Physiol.*, 177 (1965), 174-191.
- CHRISTIANSEN, G., JENNES, A. en COULTER, S. T.; Determination of ionized calcium and magnesium in milk. *Anal. Chem.*, 26 (1954), 1923-1927.
- CHUTKOW, J. K.; Studies on the absorption of magnesium. *J. Lab. Clin. Med.*, 62 (1963), 868.
- CLARK, S. L. jr.; Ingestion of proteins and colloidal materials by columnar absorptive cells of small intestine in suckling rats and mice. *J. Biophys. and Biochem. Cytol.*, 5 (1959), 41-50.
- COHNHEIM, O.; *Zeitschrift f. Biol.*, 36 (1898), 129-153.
- COOMBE, J. B. en KAY, R. N. B.; Passage of digesta through the intestines of the sheep, retention times in the small and large intestines. *Brit. J. Nutr.*, 19 (1965), 325-338.
- CORI, C. F.; Mammalian carbohydrate metabolism. *Physiol. Rev.*, 11 (1931), 143.
- CRAMER, C. F. en COPP, D. H.; Progress and rate of absorption of radiostrontium through intestinal tracts of rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 102 (1959), 514.
- CRAMER, C. F. en DUECK, J.; In vivo transport of calcium from healed Thiry-Vella fistulas in dogs. *Am. J. Physiol.*, 202 (1962), 161-164.
- CRAMER, C. F.; in: *Transfer of calcium and strontium across biological membranes*, ed., R. H. Wasserman, Ac. Press, New York, 1963, p. 75.
- CRAMER, C. F.; In vivo intestinal transport of calcium and water from solutions recycled through healed gut loop in dogs. *J. of Nutr.*, 84 (1964), 118.
- CRAMER, C. F.; Sites of absorption and the calcium concentration of gut contents in the dog. *Canad. J. Physiol. Pharmacol.*, 43 (1965), 75-78.
- CRANE, R. K.; Intestinal absorption of sugars. *Physiol. Rev.*, 40 (1960), 789-825.
- CZÁKY, T. Z.; A possible link between active transport of electrolytes and nonelectrolytes. *Fed. Proceed.*, 22 (1963), 3-8.
- CURRAN, P. F. en SCHWARTZ, G. F.; Na, Cl and water transport by rat colon. *J. Gen. Physiol.*, 43 (1960), 555-571.
- DANIÉLLI, J. F.; *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 8 (1954), 502.
- DEINUM, B., IMMINK, H. J. en DEYS, W. B.; The excretion of Chromium sesquioxide in faeces by cows after administration of Cr₂O₃-containing paper. *Jaarboek I.B.S.*, 1962, 123-129.
- DEYS, W. B., IMMINK, H. J. en WIND, J.; The determination of free fatty acids and soaps in faeces from cattle. *Mededelingen van het Instituut voor Biologisch en Scheikundig Onderzoek van Landbouwgewassen, I.B.S., Wageningen*, 1963.
- DOBSON, A. en PHILLIPSON, A. T.; The forces moving chloride ions through the rumen epithelium. *J. Physiol.*, 125 (1954), 26 P.
- DOBSON, A.; The forces moving sodium ions through the rumen epithelium. *J. Physiol.*, 128 (1955), 39 P.
- DOBSON, A.; Thesis, University of Aberdeen, 1956.
- DOBSON, A. en PHILLIPSON, A. T.; The absorption of chloride ions from the reticulo-rumen sac. *J. Physiol.*, 140 (1958), 94-104.
- DOBSON, A.; Active transport through the epithelium of the reticulo-rumen sac. *J. Physiol.*, 146 (1959), 235.
- DOWDLE, E. B., SCHACHTER, D. en SCHENKER, H.; Requirement for vitamin D for the active transport of calcium by the intestine. *Am. J. Physiol.*, 198 (1960), 269.
- DUNCAN, D. L.; The interpretation of studies of calcium and phosphorus balance in ruminants. *Nutr. Abstr. and Rev.*, 28 (1958), 695.
- EDIN, H., KIHLEN, G. en NORDFELDT, S.; *Lantbr. Högsk. Ann.*, 12 (1944-45), 166.
- ELLENBERGER, H. B., NEWLANDER, J. A. en JONES, C. H.; (1931; 1932; 1936), zie Duncan, D. L.; *Nutr. Abstr. and Rev.*, 28 (1958).
- FIELD JR., H., DAILY, R. E., BOYD, R. S. en SWELL, L.; Effect of restriction of dietary Na on electrolyte composition of the contents of the terminal ileum. *Amer. J. Physiol.*, 179 (1954), 477-480.
- FIELD, A. C.; Distribution of Mg²⁴ in the gastro-intestinal tract and tissues of sheep. *Brit. J. Nutr.*, 15 (1961), 349-359.
- FIELD, A. C.; Studies on magnesium in ruminant nutrition: The indirect determination of the

- intake of magnesium, calcium and potassium by the grazing cow. *Brit. J. Nutr.*, **18** (1964), 357.
- FINEAN, J. B.; Ultra structural studies on biological membranes. *Conf. on Permeability, Wageningen*, (1962), pag. 37.
- FINKELSTEIN, J. D. en SCHACHTER, D.; Active transport of calcium by intestine: Effects of hypophysectomy and growth hormone. *Amer. J. Physiol.*, **203** (1962), 873.
- FISKE, C. H. en SUBBAROW, J.; The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, **66** (1925), 375-400.
- FORBES, E. B. et al., (1916; 1918; 1922); zie DUNCAN, D. L.; *Nutr. Abstr. and Rev.*, **28** (1958).
- FOURNIER, P.; Le sort du calcium dans les diverses parties du tube digestif du rat adulte. *Compt. rend. acad. sci.*, **231** (1950), 1556.
- FREY-WYSSLING, A.; Active intake of molecules and ions by pinocytosis. *Conf. on Permeability, Wageningen*, (1962), pag. 117.
- GAILLARD, B. D. E.; Chromatografisch onderzoek naar de samenstelling van de polysacchariden uit de celwand in verband met de analyse van ruwvoeders. Proefschrift, Utrecht, 1954.
- GARNER, R. J.; Availability of the magnesium of grass to the ruminant. *Nature*, **164** (1949), 458.
- GARTON, G. A.; Observations on the distribution of inorganic phosphorus soluble calcium and soluble magnesium in the stomach of the sheep. *J. of Exp. Biol.*, **28** (1951), 358-368.
- GILMAN, A. en KOELLE, E. S.; Ion transport in gut. *Circulation*, **21** (1960), 948-954.
- GOLDSCHMIDT, S. en DAYTON, A. B.; *Am. J. of Physiol.*, **48** (1919), 419-480.
- GOLDSCHMIDT, S.; On the mechanism of absorption from the intestine. *Physiol. Rev.*, **1** (1921), 421-453.
- GOODALL, E. D. en KAY, R. N. B.; Digestion and absorption in the large intestine of the sheep. *J. Physiol. (London)*, **176** (1965), 12-23.
- GROLLMAN, A. en SOLLNER, K.; *Trans. Elektrochem. Soc.*, **16** (1932), 477-487.
- HAMBLETON, B. F.; *Amer. J. Physiol.*, **34** (1914), 446.
- HAMBURGER, H. J.; *Osmothischer Druck und Ionenlehre*, Wiesbaden, II (1904), 167.
- HARRISON, H. E. en HARRISON, H. C.; Studies with radiocalcium: the intestinal absorption of calcium. *J. Biol. Chem.*, **188** (1951), 83-90.
- HARRISON, H. E. en HARRISON, H. C.; Transfer of Ca^{45} across intestinal wall in vitro in relation to action of vitamin D and cortisol. *Amer. J. Physiol.*, **199** (1960), 265.
- HARRISON, F. A. en HILL, K. J.; Digestive secretions and the flow of digesta along the duodenum of the sheep. *J. Physiol.*, **162** (1962), 225-243.
- HARRISON, F. A., KEYNES, R. D. en NAUSS, A. H.; The effect of potassium on the potential across the rumen of the sheep. *J. Physiol.*, **171** (1964), 18-20 P.
- HAUSDING, D.; Vielseitig verwendbare analytische Absorptionskolonne. *Z. Anal. Chem.*, Bd. **145** (1954), 1-5.
- HEIDENHAIN, R.; *Pflügers Archiv f.d. gesamte Physiol.*, **56** (1894), 579-631.
- HENDRIX, J. Z., ALCOCK, N. W. en ARCHIBALD, R. M.; Competition between calcium, strontium and magnesium for absorption in the isolated rat intestine. *Clin. Chem.*, **9** (1963), 734-744.
- HENDRIX, J. Z. en ARCHIBALD, R. M.; The competition between calcium, strontium and magnesium for absorption in the isolated rat intestine. *Fed. Proceed.*, **22**, Vol I (1963), 491.
- HÖBER, R.; *Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe*. Berlin, Part II, (1924), 754.
- HÖBER, R.; *Pflügers Archiv f.d. gesamte Physiol.*, **70** (1898), 624-642.
- HOGBEN, C. A. M.; Alimentary tract. *Ann. Rev. Physiol.*, **22** (1960), 381-406.
- HOPPE-SEYLER, F.; *Physiologische Chemie*, Berlin, 1881, 343.
- HYDÉN, S.; A turbidimetric method for the determination of higher polyethylene glycols in biological materials. *Amer. Agric. Coll. Sweden*, **22** (1955), 139-145.
- IMMINK, H. J., GEURINK, J. H. en DEYS, W. B.; The determination of the higher fatty acids in grass and cow-faeces. *Med. Instituut voor Biologisch en Scheikundig Onderzoek van Landbouwgewassen I.B.S.*, 1965.
- INGRAHAM, R. C. en VISSCHER, M. B.; Effects of a divalent cation on sodium removal from intestinal loops. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **36** (1937), 201-202.

- INGRAHAM, R. C. en VISSCHER, M. B.; Further studies on intestinal absorption with the performance of osmotic work. *Amer. J. Physiol.*, **121** (1938), 771-785.
- JACOBS, M. H.; *Ergebn. Biol.*, **12** (1935), 1.
- KEMP, A.; Hypomagnesaemia in milking cows: the response of serum magnesium to alterations in herbage composition resulting from potash and nitrogen dressings on pasture. *Neth. J. Agric. Sci.*, **8** (1960), 281-304.
- KEMP, A., DEYS, W. B., HEMKES, O. J. en ES, A. J. H. VAN; Hypomagnesaemia in milking cows: intake and utilization of magnesium from herbage by lactating cows. *Neth. J. Agric. Sci.*, **9** (1961), 134-149.
- KIMBERG, D. V., SCHACHTER, D. en SCHENKER, H.; Active transport of calcium by intestine: effects of dietary calcium. *Am. J. Physiol.*, **200** (1961), 1256-1262.
- KLOOSTER, A. TH. VAN 'T; The concentration of sodium, potassium, calcium and magnesium in the dialysates of gut contents of conscious sheep and the distribution of these minerals in the contents of the colon and in the faeces of a sheep. *Tijdschr. Diergeneesk.*, **89** (1964), 1709-1723.
- KLOOSTER, A. TH. VAN 'T en CARE, A. D.; Inhibition by chelation of intestinal calcium absorption in conscious sheep. *Biochem. J.*, **99** (1966), 2 P.
- KREBS, H. A. en HENSELEIT, K.; *Hoppe-Seyler Zeitschr.*, **210** (1932), 33.
- KREVELD, A. VAN en MINNEN, G. VAN; Calcium and magnesium ion activity in raw milk and processed milk. *The Neth. Milk and Dairy Journal*, **9** (1955), 1-29.
- LASTER, L. en INGELFINGER, F. J.; Intestinal absorption-aspects of structure, function and disease of the small-intestinal mucosa. *New. Engl. J. of Med.*, **264** (1961), 1138-1148.
- LENGEMAN, F. W.; The metabolism of magnesium and calcium by the rat. *Arch. Biochem. Biophys.*, **84** (1959), 278-285.
- LENGEMAN, F. W.; Over-all aspects of calcium and strontium absorption. In: *The transfer of calcium and strontium across Biological membranes*, ed. R. H. Wasserman, Ac. Press, N.Y. and London, 1963, pag. 85-96.
- LENGEMAN, F. W. en COMAR, C. L.; Distribution of absorbed Sr^{85} and Ca^{45} as influenced by lactose. *Amer. J. Physiol.*, **200** (1961), 1051.
- LEWIS, W. H.; Pinocytosis. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, **49** (1931), 17.
- LUEKER, C. E. en LOFGREEN, G. P.; Effects of intake and calcium to phosphorus ratio on absorption of these elements by sheep. *J. Nutr.*, **74** (1961), 233-238.
- MAIZELS, M.; Active cation transport in erythrocytes. *Symp. Soc. Exper. Biol.*, **8** (1954), 202-227.
- MALM, O. J.; Adaptations to alterations in calcium intake, in: *The transfer of calcium and strontium across biological membranes*, ed. Wasserman, R. H. Ac. Press, N. Y., (1963), 143.
- MARCUS, C. S. en LENGEMANN, F. W.; Absorption of Ca^{45} and Sr^{85} from solid and liquid food at various levels of the alimentary tract of the rat. *J. Nutrition*, **77** (1962), 155.
- MARCUS, C. S. en LENGEMANN, F. W.; Use of radioisotopes to study food movement in the small intestine of the rat. *J. Nutrition*, **76** (1961), 179.
- MASSON, M. J. en PHILLIPSON, A. T.; The composition of the digesta leaving the abomasum of sheep. *J. Physiol.*, **116** (1952), 98-111.
- MEYER, H.; Magnesiumstoffwechsel, magnesiumbedarf und magnesiumversorgung bei den Haustieren. *Habilitationsschrift Tierärztliche Hochschule te Hannover*, 1963.
- MICHAELIS, L. en MENTEN, M. L.; *Biochem. Z.*, **49** (1913), 333.
- MILLINGTON, P. F. en FINEAN, J. B., zie Finean, J. B., 1962.
- MITCHELL, H. H.; Comparative nutrition of man and domestic animal. Ac. Press., New York-London, **II** (1964), 661.
- MOORE, J. H. en TYLER, C.; Studies on the intestinal absorption and excretion of radioactive calcium and phosphorus. *Brit. J. Nutrition*, **9** (1955), 63-93.
- NETTER, H.; *Theoretische Biochemie*. Springer Verlag, Berlin, 1959, 710.
- NICOLAYSEN, R.; The influence of vitamin D on the absorption of calcium from the intestine of rats. Experiments with isolated loops. *Acta Physiol. Scand.*, **22** (1951), 260-266.
- NICOLAYSEN, R., EEG-LARSEN, N. en MALM, O. J.; Physiology of calcium metabolism. *Phys. Rev.*, **33** (1953), 424.

- PALAY, S. L. en KARLIN, L. J.; Electron microscopic study of intestinal villus. 1. Fasting animal. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **5** (1959), 363-372.
- PHILLIPSON, A. T.; The passage of digesta from the abomasum of sheep. *J. Physiol.*, **116** (1952), 84-97.
- PHILLIPSON, A. T. en STORRY, J. E.; The absorption of calcium and magnesium from the rumen and small intestine of the sheep. *J. Physiol.*, **181** (1965), 130-150.
- POST, R. L., MERRITT, C. R., KINSOLVING, C. R. en ALBRIGHT, C. D.; Membrane adenosine triphosphatase as participant in active transport of sodium and potassium in human erythrocyte. *J. Biol. Chem.*, **235** (1960), 1796-1802.
- RAMEAU, J. TH. L. B. en TEN HAVE, J.; De bepaling van het gehalte aan fosforzuur in plantaardig materiaal en in grond volgens de molybdeenblauwmethode met metol als reductiemiddel. *Chem. Weekblad*, 1951, 1005.
- RASMUSSEN, H.; The influence of parathyroid formation upon the transport of calcium in isolated sacs of rat small intestine. *Endocrinology*, **65** (1959), 517.
- REID, E. W.; *J. of Physiol.*, **22** (1898), LVI-LVII.
- RENKEMA, J. A., SENSU, T., GAILLARD, B. D. E. en BROUWER, E.; The activity of the intestinal wall of the cow in sodium homeostasis. *Neth. J. Agric. Sci.*, **10** (1962), 52-57.
- RONA, P. en TAKAHASHI, D.; Beitrag zur Frage nach dem Verhalten des Calciums im Serum. *Biochem. Z.*, **49** (1913), 370.
- ROOK, J. A. F., BALCH, C. C. en LINE, C.; Magnesium metabolism in the dairy cow. 1. Metabolism on stall rations. *J. Agric. Sci.* **51** (1958a), 189-198.
- ROOK, J. A. F., BALCH, C. C. en LINE, C.; Magnesium metabolism in the dairy cow. 2. Metabolism on grass rations. *J. Agric. Sci.*, **51** (1958b), 199-207.
- ROOK, J. A. F. en ROWLAND, S. J.; Hypomagnesaemia and grass tetanie in dairy cattle. *Outlook on Agric.*, **III** (1962), 151-9.
- ROSS, D. B.; In vitro studies on the transport of magnesium across the intestinal wall of the rat. *J. Physiol.*, (Lond.), **160** (1962), 417-428.
- ROSS, D. B. en CARE, A. D.; The movement of Mg^{2+} across the cellwall of guinea-pig small intestine in vitro. *Biochem. Journal*, **82** (1962), 21 P.
- SAMUELSSON, D.; Ion exchange separations in analytical chemistry. ed. Almquist en Wiksell, Stockholm, 1963.
- SCHACHTER, D. en ROSEN, S. M.; Active transport of Ca^{45} by the small intestine and its dependence on vitamin D. *Amer. J. Physiol.*, **196** (1959), 357-362.
- SCHACHTER, D., DOWDLE, E. B. en SCHENKER, H.; Active transport of calcium by the small intestine of the rat. *Amer. J. Physiol.*, **198** (1960a), 263-268.
- SCHACHTER, D., DOWDLE, E. B., SCHENKER, H. en KIMBERG, D. N.; Vitamin D and the active transport of calcium. *J. Clin. Invest.* **39** (1960b), 1025.
- SCHACHTER, D., KIMBERG, D. N. en SCHENKER, H.; Active transport of calcium by intestine action and bio-assay of vitamin D. *Amer. J. Physiol.*, **200** (1961), 1263-1271.
- SCHACHTER, D.; The transfer of calcium and strontium across biological membranes. Ed. R. H. Wasserman, Acc. Press. Inc. N. Y. (1963), p. 197.
- SCHEEL, K. C.; Colorimetric determination of phosphoric acid in fertilisers with the Pulfrich photometer. *Z. Anal. Chem.*, **105** (1936), 256-269.
- SCHMIDT, C. L. en GREENBERG, D. M.; Calcium, magnesium and phosphorus in the animal organism. *Phys. Rev.*, **15** (1935), 329.
- SCOTT, D.; Factors influencing the secretion and absorption of calcium and magnesium in the small intestine of the sheep. *Quarterly Journal of Experimental Physiol.*, **50** (1965), 312-329.
- SCOTT, D.; The effect of sodium depletion and potassium supplements upon electrical potentials in the rumen of sheep. *Quart. J. Exp. Physiol.*, **51** (1965b), 60-69.
- SELLERS, A. F. en DOBSON, A.; Studies on reticulo-rumen sodium and potassium concentrations and electrical potentials in sheep. *Res. Vet. Sci.*, **1** (1960), 95-102.
- SJOLLEMA, B. en SEKKLES, L.; Over de stoornissen der minerale stofwisseling bij kalf- en koeziekte. *Tijdschr. voor Diergeneeskunde*, **56** (1929), 979.
- SJOLLEMA, B.; The influence of crude fiber and of protein upon calcium and phosphor metabolism (rabbit). *J. Biol. Chem.*, **57** (1923), 271.

- SIJLLEMA, B.; Over het wezen en de therapie van kopziekte. *Tijdschr. voor Diergeneeskunde*, **57** (1930), 67-79 en 149-171.
- SMEETS, W. T. G. M.; The determination of calcium ions concentration in milk ultrafiltrate. Thesis, Utrecht, 1962.
- SMITH, R. H.; Absorption of magnesium in the large intestine of the calf. *Nature, Lond.*, **184** (1959), 821-822.
- SMITH, R. H.; Net exchange of certain inorganic ions and water in the alimentary tract of the milk-fed calf. *Biochem. J.*, **83** (1962), 151-163.
- SMITH, R. H.; Small intestine transit time and magnesium absorption in the calf. *Nature, Lond.*, **198** (1963), 161-162.
- SMITH, R. H.; Passage of digesta through the calf abomasum and small intestine. *J. Physiol.*, **172** (1964), 305-320.
- SMITH, R. H.; Mineral and water metabolism in the calf. Report 1965, Nat. Inst. for Res. in Dairying, p. 120.
- SMITH, R. H. en Mc ALLEN, A. B.; Binding of magnesium and calcium in the contents of the small intestine of the calf. *Br. J. Nutr.* **20** (1966), 703.
- SMYTH, D. H. en TAYLOR, C. B.; Transfer of water and solutes by an in vitro intestinal preparation. *J. Physiol.*, **136** (1957), 632-648.
- SPEERBER, J., HYDÉN, S. en EKMANN, J.; The use of polyethylene glycol as a reference substance in the study of ruminant digestion. *Kungl. Lantbrukshögskolans Ann.*, **20** (1953), 337-344.
- SOEST, P. J. VAN; Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II a rapid method for the determination of fiber and lignin. *Journal of the A.O.A.C.*, **46**, 829, 1963.
- SOUCHAY, P.; Les électrodes du 3e ordre. *Revue scientifique*, **85** (1947) 42.
- STEVENSON, A. E. en DE LANGEN, H.; Measurement of feed intake by grazing cattle and sheep. VII Modified wet digestion method for determination of chromic oxide in faeces. *N.Z.J. Agric. Res.*, **3** (1960), 314-319.
- STEWART, J. en MOODIE, E. W.; The absorption of magnesium from the alimentary tract of sheep. *J. comp. Path.*, **66** (1956), 10-21.
- STORRY, J. E.; Studies on calcium and magnesium in the ruminant in relation to the aetiology of grass tetany. Ph. D. Thesis, University of Aberdeen, 1960.
- STORRY, J. E.; Calcium and magnesium contents of various secretions entering the digestive tract of sheep. *Nature, Lond.*, **190** (1961), 1197-1198.
- STORRY, J. E.; Studies on calcium and magnesium in the alimentary tract of sheep: the distribution of calcium and magnesium in the contents taken from various parts of the alimentary tract. *J. Agric. Sci.*, **57** (1961a), 97-102.
- STORRY, J. E.; *ibid*: The effect of reducing the acidity of abomasal digesta in vitro on the distribution of calcium and magnesium. *J. Agric. Sci.*, **57** (1961b), 103-109.
- TENDELOO, H. J. C.; Mineral electrodes III. *Rec. Trav. Chim.*, **55** (1936a), 227.
- TENDELOO, H. J. C.; A new and easy method for the potentiometric determination of the calcium ion concentration in solutions. *J. Biol. Chem.*, **113** (1936b), 333.
- THOMAS, R. U., LITOVITZ, T. A. en GESCHICKTER, C. F.; Alterations in dynamics of calcium metabolism by intra intestinal calcium reservoirs. *Amer. J. Physiol.*, **176** (1954), 381-387.
- THOMPSON, M. E.; Magnesium in sea water: an electrode measurement. *Science*, **153** (1966), 866.
- USSING, H. H.; Transport of ions across cellular membranes. *Phys. Rev.*, **29** (1949), 127-155.
- USSING, H. H.; Ion transport across biological membranes. In: *Ion transport across membranes*, ed. H. T. Clarke. Ac. Press. Inc. N. Y. 1954, 3-22.
- USSING, H. H.; *Handbuch der Experimentellen Pharm.*, Band 13 (1960)
- VERZAR, F. en KOKAS, E. VON; *Pflügers Archiv. f.d. gesammte Physiol.*, **217** (1927), 397-412.
- VISEK, W. J., MONROE, R. A., SWANSON, E. W. en COMAR, C. L.; Calcium metabolism in dairy cows as studied with Ca^{45} . *J. Dairy Sci.* **36** (1953), 373-384.
- VOGEL, A. I.; *Quantitative inorganic analysis*, III, ed. Longmans, (1962) p. 702.
- VOIT, C. en BAUER, J.; *Zeitschrift f. Biol.*; **V** (1869), 536.
- WALSER, M.; Determinations of free magnesium ions in body fluids. Improved methods for free calcium ions, total calcium, and total magnesium. *Anal. Chem.* **32** (1960), 711-717.

- WASSERMAN, R. H., KALLFELZ, F. A. en COMAR, C. L.; Active transport of calcium by rat duodenum in vivo. *Science*, **133** (1961), 883.
- WASSERMAN, R. H.; Studies on vitamin D₃ and the intestinal absorption of Ca and other ions in the rachitic chick. *J. Nutrition*, **77** (1962), 69.
- D'A WEBLING, D. en HOLDSWORTH, E. S.; The effect of bile, bile acids and detergents on calcium-absorption in the chick. *Biochem. J.*, **97** (1965), 408.
- WEERDEN, E. J. VAN; Over de osmotische waarde en de gehalten aan enige opgeloste bestanddelen van de darminhoud en de mest bij het rund, in verband gebracht met de resorptie der mineralen. Proefschrift, Wageningen, 1959.
- WEERDEN, E. J. VAN; The osmotic pressure and the concentration of some solutes of the intestinal contents and the faeces of the cow, in relation to the absorption of the minerals. *J. Agric. Sci., Camb.*, **56** (1961), 317-324.
- WILSON, T. H. en WISEMAN, G.; The use of sacs of everted small intestine for the study of the transference of substances from the mucosal to the serosal surface. *J. Physiol.*, **123** (1954), 116-125.
- WISEMAN, G.; Absorption from the intestine. Acad. Press. London and New York, 1964.
- ZETTERQUIST, H.; The ultrastructural organization of the columnar absorbing cells of the mouse jejunum. Stockholm: Karolinska Institutet, 1956, 83 p.p.

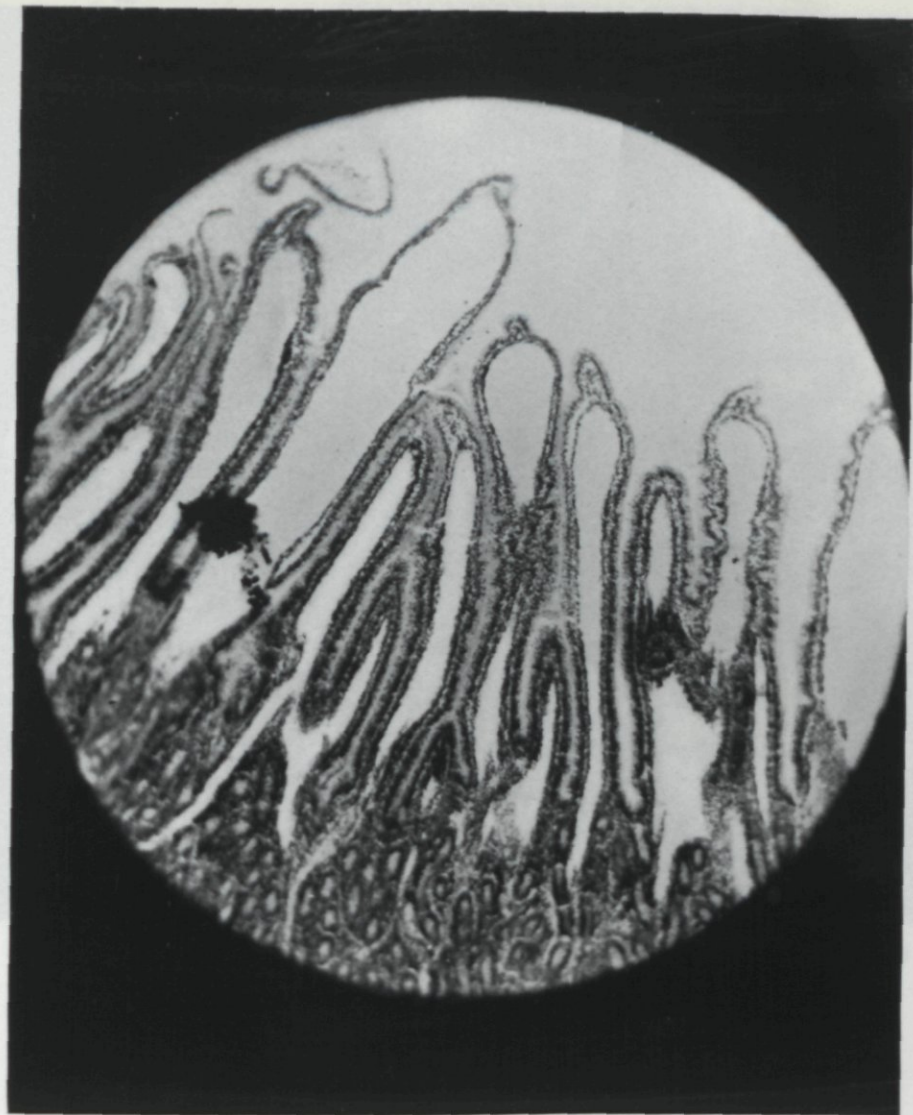


Foto 1. Darmwandepithelium van een geanaestheerde koe op ca. 5 m van de pylorus.
Haematoxyline-eosine kleuring, 7μ , $60\times$.
Gut wall epithelium of an anaesthetized cow at about 5 m distal from the pylorus.
Haematoxylin eosin, 7μ , $60\times$.

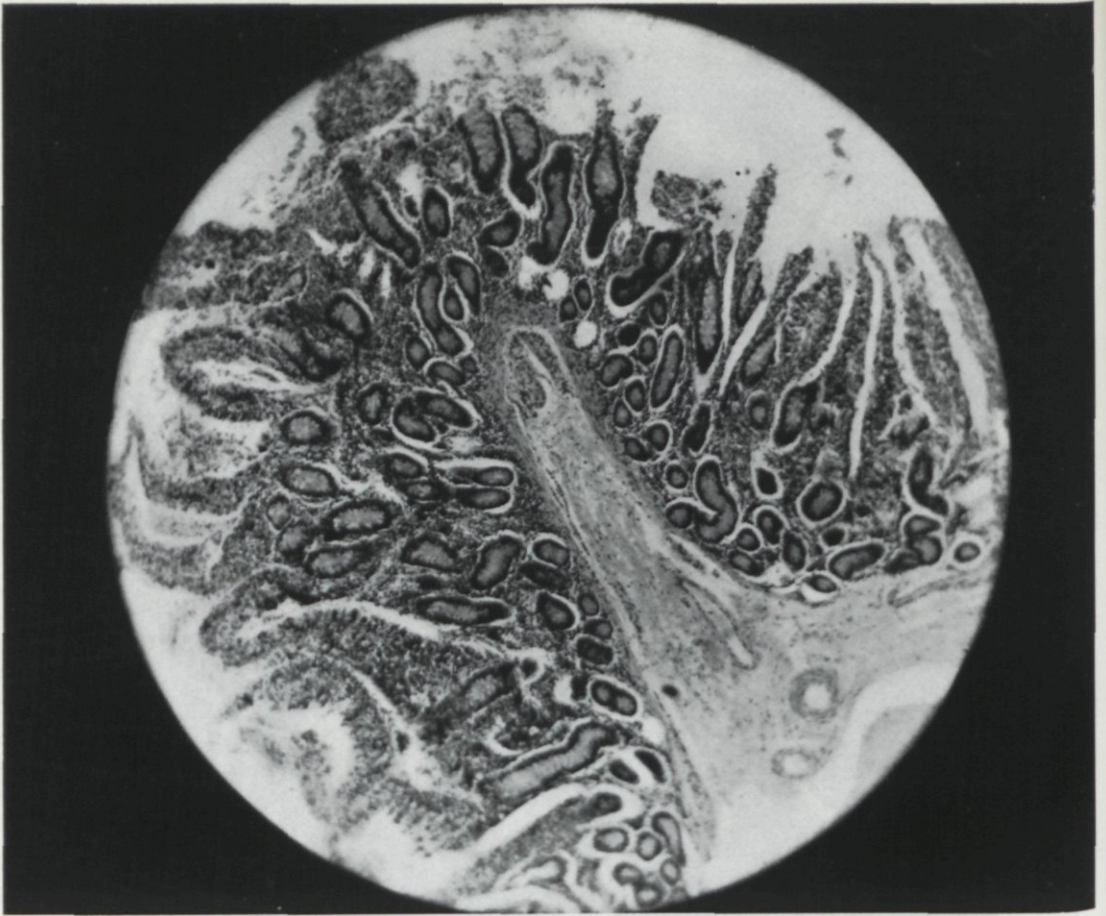


Foto 2. Darmwandepithelium van een koe, die op de gebruikelijke wijze werd geslacht, ca. 4 m van de pylorus.
Haematoxyline-eosine kleuring, 7μ , $60\times$.
Gut wall epithelium of a cow 1 hr after death by shooting, about 4 m from the pylorus.
Haematoxylin eosin, 7μ , $60\times$.